

カラマツ属の形態分類および生態学的特性と 分子系統との関係に関する研究

木佐貫博光*

Study on the Morphological and Ecological Characteristics of the Genus *Larix* with Special Reference to Its Molecular Phylogeny

Hirimitsu KISANUKI*

目 次

はじめに	64
1 章 カラマツ属の分類, 地理分布, および種特性	65
1 節 カラマツ属の分類	65
2 節 カラマツ属の地理分布	69
3 節 カラマツ属の種特性	71
4 節 分子情報に基づくカラマツ属の系統	73
2 章 カラマツ属樹種のフェノロジー特性	74
1 節 カラマツ属樹種の開芽期および開花期における樹種間差	75
2 節 カラマツ属樹種の黄葉期および落葉期における樹種間差	78
3 節 カラマツ属樹種の種子落下時期における樹種間差	86
3 章 分子情報に基づくカラマツ属樹種の系統	100
1 節 葉緑体 DNA の制限酵素断片長多型に基づくカラマツ属の DNA 分類	101
2 節 葉緑体 DNA の <i>rbcL</i> 遺伝子塩基配列に基づくカラマツ属の系統	107
3 節 核ゲノムの RAPD 法に基づくカラマツ属の類縁関係	115
4 章 カラマツ属の系統	121
1 節 現生種と化石記録によるカラマツ属の分類	121
2 節 カラマツ属樹種のフェノロジー特性と系統	123
3 節 形態分類と分子系統	128
謝 辞	132
要 旨	133
引用文献	134
Summary	144

* 東京大学大学院農学生命科学研究科附属演習林北海道演習林
University Forest in Hokkaido, Graduate School of Agriculture and Life Science, The University of Tokyo.
現所属: 三重大学生物資源学部
Present Address: Faculty of Bioresources, Mie University.

はじめに

北半球の冷温帯から亜寒帯にかけての広大な針葉樹林においてカラマツ属は優占する (OSTENFELD and LARSEN, 1930; FARJON, 1990)。カラマツ属は落葉針葉樹であり、寒冷乾燥地域に適応している (酒井, 1995)。落葉針葉樹には他に、マツ科イヌカラマツ属、スギ科のメタセコイア属やヌマスギ属などがある。これらのなかでは、現在カラマツ属がその分布の広がりや樹種数の多さにおいて卓越している。カラマツ属は第三紀中新世に出現し、第四紀における地球の寒冷化に伴って分布域を拡大したとされる (FLORIN, 1963)。同属は落葉性による耐乾性と高い耐凍性とを併せもつ (酒井, 1995) ことから、北アメリカ大陸とユーラシア大陸の北方圏における寒冷な地帯、なかでもシベリアなどに広がる永久凍土地帯において優占することが可能となった。

カラマツ属では種間雑種が容易に形成される (OSTENFELD and LARSEN, 1930)。北海道では第二次世界大戦後、寒さに強く、かつ成長の速い本州産カラマツの造林が盛んに行われた。一方、カラマツ造林地では、野兎鼠による大規模な被害が問題となった。そこで、カラマツと他のカラマツ属樹種との人工交配による耐鼠性の育種が 1950 年代以降精力的に行われた。その結果、グイマツを母樹とし、カラマツを花粉親とする雑種第一代が、造林樹種として有効であるとする実証的研究が数多くなされた (倉橋, 1988)。これに伴って、東京大学北海道演習林には世界各地から収集されたカラマツ属樹種が数多く植栽され、遺伝子資源として利用可能になっている。

近年、酸性雨などが原因とされる森林衰退現象がヨーロッパを中心に深刻化している。衰退の著しい森林の主な構成樹種はヨーロッパトウヒやヨーロッパアカマツなどの常緑針葉樹である。これらの衰退跡地では、復旧造林樹種として、初期成長の速いカラマツ属樹種が選定される場合が多い。ヨーロッパカラマツは先枯病や胴枯病に感染しやすいため、それらに対する病害抵抗性があるカラマツとの交雑育種が盛んに行われてきた (PAQUES, 1989)。

カラマツ属樹木の森林面積が約 2 億 6800 万 ha に及ぶロシアでは、その蓄積が約 254 億 m^3 に達する (MILYUTIN and VISHNEVETSKAIA, 1992)。ロシアでは同属樹種の産地特性を解明するために、ウラル山脈西部からカムチャッカ半島にかけての 16 地域 48 地点を産地とする大規模な産地試験が開始された (MARTINSSON, 1995)。しかし近年、ロシアのカラマツ林は伐採や火災によって急速に失われつつあり、これに伴う永久凍土の融解が問題視されている (酒井, 1995)。

北アメリカ大陸では、アメリカカラマツが広範囲に分布するため資源量が多い。一方、セイブカラマツは大陸西部の狭い範囲に分布するが、直径 1 m 以上の大径木に成長するため、有用樹種として重視されてきた。

このように、カラマツ属は北半球の冷温帯から亜寒帯にかけて、非常に重要な造林樹種として位置づけられている。それだけではなく、熱帯を中心とする過伐によって大きく減少した地球全体の森林のなかで、広大な面積の森林が現在もなお残っているタイガの優占樹種であることから、カラマツ属樹種は地球の生態系保全のためにも重要である。

カラマツ属の分類についてみると、同属樹種は地域集団内および集団間において種内変異が連続的に認められ、分類に関する統一的な見解は確立されるに至っていない。なかでも、シベリア東部から中国東北部にかけて分布するダフリアカラマツとその変種は、球果の形態的な変異が著しいため、分類学者による見解の差違が著しい。

また、カラマツ属の生態特性をみると、黄葉時期などの秋季フェノロジー (生物季節) には、

樹種間の差異が顕著に認められる。このフェノロジー特性を樹種間で比較するためには、同一条件下に植栽された個体の観察を行うことが必要である。

近年、DNA 分析技術はめざましい発展を遂げている。DNA を解析することで、数多くの生物分類群において、形態だけでは評価できなかった系統を克明に呈示することが可能となった。この技術の適用は、マツ科樹木に対しても徐々に進展を見せている。カラマツ属の系統を解明するためには、形態に基づくだけでは困難なため、分子生物学的な技術を駆使する必要があると考えられる。

本研究は、カラマツ属の形態的特徴やフェノロジーなどの生態学的特性について樹種間の比較を行い、さらに DNA 分析によって得られた分子系統をもとに、カラマツ属の系統を明らかにした。1 章では、カラマツ属の形態分類、地理分布、および種特性ならびに分子系統について検討を加えた。2 章では、属のフェノロジーや種子落下期にみられる生態学的特性を解明した。3 章では分子生物学的手法に基づいて同属の系統を推定した。4 章では 1 章から 3 章までに得られた知見を総合し、カラマツ属の系統について論考した。

1 章 カラマツ属の分類、地理分布、および種特性

1 節 カラマツ属の分類

カラマツ属 (*Larix*) は分類学上、マツ科 (Pinaceae) カラマツ亜科 (Laricoideae) に位置づけられる (PILGER, 1926; FRANKIS, 1989)。カラマツ亜科の樹種には長枝と短枝があり、球果が 1~3 年で成熟するのが特徴である。繁殖器官や、花粉タイプと染色体数などの 25 種類の形態的特徴から、カラマツ亜科 (Laricoideae) には、*Cathaya*, *Pseudotsuga*, *Larix* が分類される (FRANKIS, 1989; FARJON, 1990)。

カラマツ属の特徴は次のとおりである。落葉高木。長枝と短枝がある。針葉は長枝には螺旋生し、短枝には束生する。単性の球果が短枝端に一個ずつ形成される。風媒・風散。種鱗と苞鱗はともに発達する。球果が上向きに着生し、成熟後も種鱗および苞鱗が中軸から分離しない。

属内の分類に関しては、種々の見解がみられる。カラマツ属の分類に用いられる形質には、球果および鱗片の形態、若枝の色や有毛性などがある (OSTENFELD and LARSEN, 1930; FARJON, 1990)。なかでも球果形態は分類上重視され、種鱗と苞鱗の相対的な長さから (図-1)、カラマツ節 (*Pauciserialis*) とナガミカラマツ節 (*Multiserialis*) の 2 節に分類される (PATSCHE, 1913)。

DYLIS (1961) は、シベリアに広く分布するカラマツ属樹種の数多くの産地から得られた個体を対象に、球果や冬芽などにみられる形質について調べた。その結果、球果の開出角度、種鱗裏面の毛の密度などの形質が、分類に有効であると結論づけた。ただし、カラマツ類の球果における毛の密度や球果長などの量的な形質は、着果部位や結実年によって変化することが多い。DYLIS (1961) によって棄却された種鱗の枚数や球果長などの形質は、これらの採取条件の不統一による影響を受けたものも少なくないと考えられる。球果の比較には、なるべく採取年が同じものを用いるべきである。

球果形質は、形質が顕著に異なる樹種同士を簡便に分類する手段として有効な場合がある。しかし、ほとんどの球果形質は量的遺伝を示すため、個体間、地域集団間および樹種間で連続的な変異がみられる (SCHORN, 1994; 濱谷, 1995)。このため、球果の形質に基づくカラマツ属の分類には限界がある。

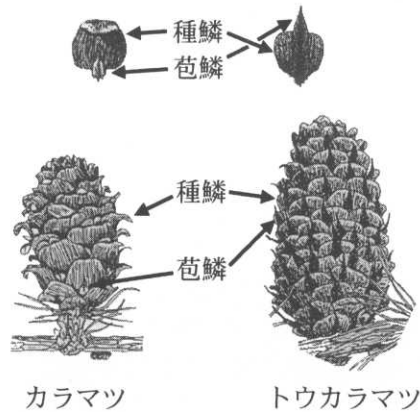


図-1 カラマツ属の分類に用いられる球果の形質

Fig. 1. Morphological characters utilized in the classification of the genus *Larix* (Modified after FARJON (1990)).

カラマツ属の分類体系を表-1 に示した。樹種数についてみると、10 種から 16 種に分けるものが多数を占める。OSTENFELD and LARSEN (1930) が示した 10 種 3 変種に分ける体系は、数多くの研究者に支持されている。形態のみならず発生学や生理学的な知見に基づいてマツ科を総括した FARJON (1990) は、同属を 10 種 8 変種に分類した。一方、FLORIN (1963) と BOBROV (1972) は、これらの体系で変種とされているものすべてを種として扱い、それぞれ 15 種と 16 種に分類した。ロシア東部から朝鮮半島にかけての同属樹種の集団では、球果などの形態変異が特に著しい。これらの集団を独立樹種として認定すると、数多くの樹種を数えることになる。これらのなかには、現在互いに隣接する樹種同士が過去に交雑して生じた雑種由来のものも含まれると考えられる。

本研究では、OSTENFELD and LARSEN (1930) に若干の改変を加えた分類体系を用い、和名は濱谷 (1995) に従った (表-2)。以下、各樹種に関する分類上の問題点や特筆すべき点を記す。

1) ナガミカラマツ節樹種

ナガミカラマツ節にはヒマラヤカラマツ、シセンカラマツ、トウカラマツ、セイブカラマツ、およびタカネカラマツの 5 樹種がある。中国南部からヒマラヤにかけて分布するナガミカラマツ節の 3 樹種は、5 樹種に分類されることがある (王・張, 1992)。ヒマラヤカラマツの変種 (*L. griffithiana* var. *speciosa*) をオニカラマツ (*L. speciosa*)、トウカラマツの 2 変種 (*L. potaninii* var. *chinensis*, *L. potaninii* var. *himalaica*) をそれぞれタイハクカラマツ (*L. chinensis*) およびヒマラヤカラマツ (*L. himalaica*) とするものである。しかし、これらには、球果の大きさに若干の差があるだけで、独立種とするほどの顕著な特徴は認められない。

ヒマラヤカラマツ (*L. griffithiana*) の球果は大きく、かつ種鱗から大きくはみ出した苞鱗が顕著に反曲するため、他樹種と明瞭に区別される。

シセンカラマツ (*L. mastersiana*) とトウカラマツ (*L. potaninii*) の間では球果サイズが異なる他、トウカラマツでは苞鱗が比較的短く、真っ直ぐで、球果が赤紫であるのに対し、シセンカラマツでは苞鱗がより長く、かなり外反することと、球果が赤色と褐色であるなどの点が異なる。

タカネカラマツ (*L. lyallii*) の球果はセイブカラマツ (*L. occidentalis*) のそれよりも大きく、前

表-1 カラマツ属の分類体系
Table 1. The system of the classification for the genus *Larix*

OSTENFELD & LARSEN (1930)	KOMAROV (1934)	KOLESNIKOV (1946)	DYLIS (1961)	FLORIN (1963)	齋藤ら (1965)	BOBROV (1972)	FARJON (1990)	王・張 (1992)
<i>decidua</i> var. <i>polonica</i>				<i>decidua</i> <i>polonica</i>	<i>decidua</i>	<i>decidua</i> × <i>polonica</i>	<i>decidua</i> var. <i>polonica</i> var. <i>carpatica</i>	<i>decidua</i>
	<i>sibirica</i>	<i>sibirica</i> <i>sukaczewii</i>	<i>sibirica</i>	<i>russtica</i>	<i>sibirica</i>	<i>sibirica</i>	<i>russtica</i>	<i>sibirica</i>
<i>gmelinii</i>	<i>dahurica</i>	<i>dahurica</i>	<i>dahurica</i> × <i>Czekanowskii</i> × <i>amurensis</i>	<i>gmelinii</i>	<i>dahurica</i>	<i>gmelinii</i> <i>cajanderei</i>	<i>gmelinii</i>	<i>gmelinii</i> <i>cajanderei</i>
	var. <i>olgenis</i>	<i>maritima</i> <i>olgenis</i> <i>lubarskii</i>	<i>maritima</i> <i>olgenis</i> × <i>lubarskii</i>	<i>olgenis</i>	var. <i>dahurica</i> var. <i>olgenis</i>	<i>olgenis</i>	var. <i>olgenis</i>	<i>olgenis</i>
var. <i>principis-rupprechtii</i>	<i>kamutschatica</i>	<i>kurilensis</i> <i>komarovii</i> <i>ohotensis</i> <i>middendorf</i>	<i>kurilensis</i> × <i>ochotensis</i>		var. <i>koreana</i>	<i>kamutschatica</i>	var. <i>japonica</i>	
			<i>principis-rupprechtii</i>	<i>principis-rupprechtii</i>	var. <i>principis-rupprechtii</i>	<i>principis-rupprechtii</i>	var. <i>principis-rupprechtii</i>	<i>principis-rupprechtii</i>
	<i>kaempferi</i> <i>laricina</i>		<i>leptolepis</i>	<i>kaempferi</i> <i>laricina</i> <i>alaskensis</i>	<i>leptolepis</i> <i>laricina</i> var. <i>alaskensis</i>	<i>leptolepis</i> <i>laricina</i> <i>alaskensis</i>	<i>kaempferi</i> <i>laricina</i>	<i>kaempferi</i> <i>laricina</i>
<i>griffithiana</i>				<i>griffithiana</i> <i>speciosa</i>	<i>griffithiana</i>	<i>griffithiana</i>	<i>griffithiana</i>	<i>griffithiana</i>
	<i>potaninii</i>			<i>potaninii</i>	<i>potaninii</i>	<i>potaninii</i>	var. <i>speciosa</i> <i>potaninii</i> var. <i>himalaica</i> var. <i>macrocarpa</i>	<i>speciosa</i> <i>potaninii</i> <i>himalaica</i>
<i>mastersiana</i> <i>lyallii</i> <i>occidentalis</i>				<i>mastersiana</i> <i>lyallii</i> <i>occidentalis</i>	<i>mastersiana</i> <i>lyallii</i> <i>occidentalis</i>	<i>mastersiana</i> <i>lyallii</i> <i>occidentalis</i>	<i>mastersiana</i> <i>lyallii</i> <i>occidentalis</i>	<i>mastersiana</i> <i>lyallii</i> <i>occidentalis</i>

表-2 本研究で用いたカラマツ属の分類体系

Table 2. The system of the classification for the genus *Larix* used in this study

樹種 Species	和名 Japanese Name	略号 Abbr.
<i>Larix</i> MILL.	カラマツ属	
Section <i>Larix</i>	カラマツ節	
<i>L. decidua</i> MILL.	ヨーロッパカラマツ	DEC
var. <i>polonica</i> (RACIB.) OSTENF. et SYRACH LARSEN	ポーランドカラマツ	POL
var. <i>carpatica</i> DOMIN		CAR
<i>L. sibirica</i> LEDEB.	シベリアカラマツ	SIB
<i>L. gmelinii</i> (RUPR.) RUPR.	ダフリアカラマツ	GME
var. <i>japonica</i> PILGER	グイマツ (千島系)	JAK
"	グイマツ (樺太系)	JAS
var. <i>olgensis</i> OSTENF. et SYRACH LARSEN	マンシュウカラマツ	OLM
"	チョウセンカラマツ	OLK
var. <i>principis-rupprechtii</i> PILGER	ホクシカラマツ	PRI
<i>L. kaempferi</i> (LAMB.) CARR.	カラマツ	KAE
<i>L. laricina</i> (Du Roi) K. KOCH	アメリカカラマツ	LAR
Section <i>Multiserialis</i>	ナガミカラマツ節	
<i>L. griffithiana</i> (LINDL. et GORD.) CARR.	ヒマラヤカラマツ	GRI
var. <i>speciosa</i> (CHEBG et LAU) FARJON	オニカラマツ	SPE
<i>L. potaninii</i> BATAL.	トウカラマツ	POT
var. <i>himalaica</i> (CHEBG et FU) FARJON		HIM
var. <i>macrocarpa</i> LAW		MAC
<i>L. mastersiana</i> REHDER et WILSON	シセンカラマツ	MAS
<i>L. lyallii</i> PARL.	タカネカラマツ	LYA
<i>L. occidentalis</i> NUTT.	セイブカラマツ	OC

者の苞鱗は顕著に突出する。また、タカネカラマツの1年枝では、より有毛性が顕著である。タカネカラマツが他樹種と異なる特徴は、葉の横断面が顕著な四角形を示す点である。セイブカラマツは、最大樹高が80m、最大直径が2.5mに達するが、タカネカラマツの樹高は、条件が良ければ20mに達するが、大概これよりも低い。

2) カラマツ節樹種

カラマツ節には、ヨーロッパカラマツ、シベリアカラマツ、ダフリアカラマツ、カラマツ、およびアメリカカラマツの5樹種がある。

ヨーロッパカラマツ (*L. decidua*) は、球果の種鱗が真っ直ぐで薄いことから、シベリアカラマツと区別される。また、ヨーロッパカラマツでは、種子の翼長が長く種鱗の縁に達することが、シベリアカラマツと異なる。ポーランドやスロバキアに分布するカラマツ属樹木は、ヨーロッパカラマツの変種ポーランドカラマツ (*L. decidua* var. *polonica*) とされる。しかし時には、独立種 *L. polonica* RACIBORSKI とされたり、シベリアカラマツとヨーロッパカラマツとの雑種だとされる (BOBROV, 1972)。このカラマツ属樹木は、球果が比較的小さいことを除けば、ヨーロッパカラマツに類似するため、同樹種の変種とするのが妥当だと考えられる。

シベリアカラマツ (*L. sibirica*) は、球果がなければヨーロッパカラマツとの区別は困難である。球果の種鱗が内側に湾曲し、その内曲する縁がシベリアカラマツの特徴である。また、ウラル山脈以西に分布するシベリアカラマツは、球果サイズが比較的大きいことから別種 (*L. sukaz-*

ewii DYLIS) とされることがある (DYLIS, 1961; PUTENIKHIN and MARTINSSON, 1995)。

ユーラシア大陸東部に分布するダフリアカラマツ (*L. gmelinii*) の分布範囲は非常に広いこともあって地域集団間の形態変異が著しく、同樹種およびその変種の分類はカラマツ属の中で困難を極める。例えば、マンシュウカラマツ (*L. gmelinii* var. *olgensis*) とホクシカラマツ (*L. gmelinii* var. *principis-rupprechtii*) は、それぞれ *L. olgensis*, *L. principis-rupprechtii* のように独立種とされることもある (中井, 1938; 竹内, 1941; BOBROV, 1972)。マンシュウカラマツは、球果が長く種鱗が丸いことが特徴である。ホクシカラマツは球果サイズが大きいことが特徴である。ホクシカラマツの球果は、シベリアカラマツのそれに類似するが、種鱗が滑らかで薄く、内側に湾曲しない点で異なる。しかし、これらの変種には、独立種とする程の顕著な形態的特徴が認められない。

サハリン (樺太) とクリル諸島南部 (択捉島, 色丹島) に分布するダフリアカラマツは、未成熟球果の色が赤紫色を示す個体の割合が高いことと1年枝の毛の量が多い個体が多数を占めることから、変種ゲイマツ (*L. gmelinii* var. *japonica*) として識別される。ゲイマツは、独立種 *L. kurilensis* (DYLIS 1961) または *L. kamutschatica* (KOMAROV, 1934) とされることもある。OSTENFELD and LARSEN (1930) は、この程度の変異は種あるいは変種とするには十分なものではないとし、これらすべてをダフリアカラマツに含めた。しかしゲイマツは、島嶼に隔離分布し、成長、フェノロジー、耐病性、耐鼠性など数多くの生育特性においてダフリアカラマツと異なる。したがって、今回ゲイマツをダフリアカラマツの変種とした。

また、シベリア極東部のカラマツは、球果を乾燥させると種鱗の開出角度が著しく大きくなるため独立種 (*L. cajanderi* MAYR) とされることもあるが、種や変種レベルで分けるほどの形質ではないと考えられ、ダフリアカラマツとした。

カラマツ (*L. kaempferi*) の種鱗は、外側に湾曲するため、他樹種と区別しやすい。他樹種と地理的に隔離分布していることも、すべての分類体系において独立種とされる理由である。

アメリカカラマツ (*L. laricina*) の成熟球果には変異が少なく、他樹種との識別に有効である。種鱗は厚く、明るく、滑らかで、12~15枚の種鱗によって約1.5cmの小さい球果になる。アラスカに産するアメリカカラマツは、種鱗数が少ないこと、種鱗が細長いこと、葉が短いこと、樹高成長が遅いことなどから独立種 (*L. alaskensis* WIGHT) とされた (WIGHT, 1907; 上原, 1959)。しかし、いずれの形質もアメリカカラマツの種内変異に含まれること、成長は生育環境を反映するものと考えられることから、アラスカに分布するカラマツ属樹木をアメリカカラマツとするのが妥当である。

2節 カラマツ属の地理分布

1) 過去の分布—カラマツ属の化石記録—

化石記録は、生物の進化と系統を推定するうえで非常に重要である。限られた狭い分布範囲と独特な球果形態から、ナガミカラマツ節はカラマツ属の祖先型に近いものと考えられた (DYLIS, 1961; 柳沢・中田, 1968; FARJON, 1990)。しかし、同節の化石は第四紀前半以降のものしか発見されていないが、カラマツ節では第三紀前半の化石が発見されている。この第三紀の化石は、北アメリカ大陸北部のアクセルハイバーク島で発見され、地史的に最も古い (LEPAGE and BASINGER, 1991)。このことから、カラマツ節がカラマツ属の祖先に類似するものであり、同属の起源は

北アメリカ大陸北部である可能性が高い。ナガミカラマツ節の現分布は遺存分布的であるが、広範囲に分布するカラマツ節は最終氷期後に分布拡大したものであるため、現分布の広さだけで起源を推定するのは不適である。

日本列島では、兵庫県西宮市（標高 45 m）、三重県桑名郡多度町（標高 60 m）、東京都中野区江古田（標高 38 m）など本州の低標高地域における更新世の地層からカラマツ属の遺体が発見されている (MIKI, 1956)。第四紀更新世の最終氷期・立川期における同属の遺体産出地をみると、宮城県以北にグイマツの遺体が、宮城・福島県境にカラマツの遺体がそれぞれ認められる (柳沢, 1970; 相馬・辻, 1987; 矢野, 1995)。現在ではクリル南部の択捉島および色丹島ならびにサハリンに分布するグイマツは、花粉分析によると約 8,000 年前に北海道から絶滅した (IGARASHI, 1993)。サハリン北部におけるグイマツの優占度は 7,500 年前に急減しており (IGARASHI, 1997)、最終氷期後の温暖化に伴って、グイマツは北方に後退した。グイマツは、日本列島における森林植生の変遷の過程において、更新世の寒冷期には北海道や本州北部に分布域を拡大し、温暖期になると著しく後退することを繰り返してきたと考えられる (矢野, 1995)。

以上の化石記録から、最終氷期以前の日本列島にはカラマツとグイマツが分布しており、両者間で遺伝的な交流があった可能性 (矢野, 1995) が考えられる。その名残を、宮城県蔵王山系に分布する北限のカラマツが留めているのではないかと推測されたが、DNA 分析結果からは否定的な見解 (白石ら, 1995; 白石ら, 1996) が示されている。このため、氷期以前に両樹種の分布が近接し、交雑していたという説は実証されていない。

2) 現在の分布

現在のカラマツ属の分布を図-2 に示す。同属は、北半球の低緯度高山から高緯度低地にかけてのかなり広い範囲に分布する。同属には、非常に広範な分布を示す樹種群と、狭い範囲に遺存的

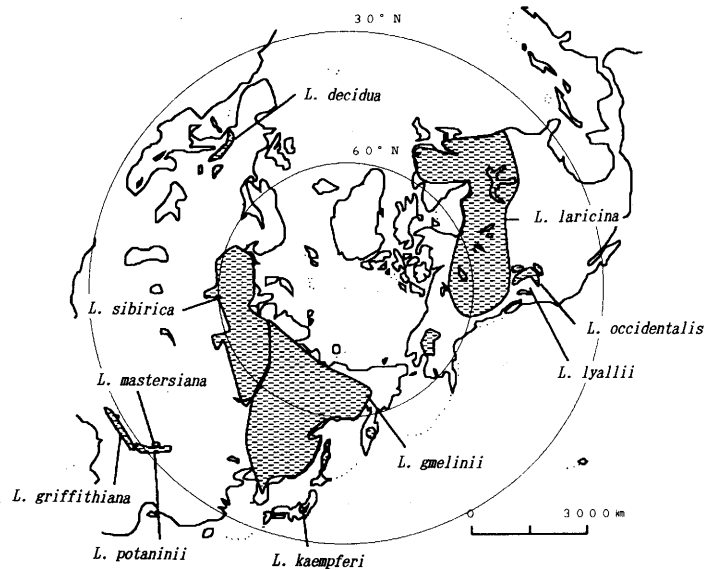


図-2 カラマツ属の分布

Fig. 2. The distribution map of the genus *Larix*.

な分布を示す樹種群とがある。

前者にはカラマツ節に属するシベリアカラマツ、ダフリアカラマツおよびアメリカカラマツの3樹種がある。シベリアカラマツは欧州ロシアからシベリアにかけて、ダフリアカラマツはシベリアから北東アジアにかけての広大な地域で連続的に分布する。シベリアカラマツは、非常に広い範囲に分布するが、ダフリアカラマツほどの純林を形成することはない。ダフリアカラマツは山火再生林として大面積の純林を形成することがある(石ら, 1996)。なお、シベリアカラマツとダフリアカラマツとの分布境界地域では交雑が頻繁に行われており、広大な面積の雑種帯が形成されている。この雑種は *L. × czekanowski* SZAFER とされる。アメリカカラマツは、北アメリカ大陸北部の広い範囲に分布する。これらの樹種はいずれも高緯度低地を優占しており、そのほとんどが永久凍土の分布と重なる(酒井, 1995)。

後者にはカラマツ節のヨーロッパカラマツおよびカラマツ、ならびにナガミカラマツ節の全樹種がある。これらの分布範囲は比較的小面積規模で、標高の高い地域に該当する。ヨーロッパカラマツは、ヨーロッパアルプス周辺の山岳地帯をはじめ、ルーマニア、スロバキア、ポーランドなどに点在する。カラマツは、本州中部山岳地帯に分布し、北限は宮城県蔵王山系の馬ノ神岳、南限は南アルプス山系に位置する静岡県山住山国有林である(林, 1960)。

ナガミカラマツ節の5樹種はすべて、中国南西部からヒマラヤにかけてと、北アメリカ大陸西部の限定された山岳地帯に分布する。ヒマラヤカラマツは、東ヒマラヤのネパールからインドおよびチベットにかけての細長い範囲に分布する。トウカラマツは中国南部の比較的広い範囲に分布する。シセンカラマツの分布は、トウカラマツの分布と重なるごく狭い範囲に限られる。北アメリカ大陸西岸のタカネカラマツとセイブカラマツとは分布が重なる。前者の分布は、標高1,200 m から2,400 m までの亜高山帯から高山帯の森林限界にかけてであるのに対し、後者の分布は標高600 m から2,100 m までの山地帯から亜高山帯にかけてである(OSTENFELD and LARSEN, 1930)。

カラマツ属の地理分布は、温暖期には北上あるいは高標高域に上昇し、寒冷期には南下あるいは低標高域に下降したと考えられる。広範な分布を示す3樹種が現在の分布に至ったのは、約2万年前の最終氷期以降である。

3節 カラマツ属の種特性

カラマツ属は落葉針葉樹である。針葉樹のなかで落葉性を示すものにはカラマツ属の他に、イヌカラマツ属(*Pseudolarix*)、ヌマスギ属(*Taxodium*)、スイショウ属(*Glyptostrobus*)、アケボノスギ属(*Metasequoia*)などがある。これらの属は、いずれも比較的気候の温暖な場所に遺存的に分布する(FARJON, 1990)。北半球北方圏の寒冷地域において、カラマツ属以外の落葉針葉樹は認められない。

同属の種特性には、落葉性の他に、浅根性、高い光合成能力、および生育期間終了期における葉から枝への養分転流率の高さが知られる。これらの種特性は、同属が寒冷乾燥地域に適応したことと関連するのではないかと考えられる。

1) 落葉性

カラマツ属樹木は冬季間落葉するため、冬季の低温に耐えられる程の機能をもつコストのかかる葉を付ける必要がない。北方圏の永久凍土地帯では、降水量が非常に少なく、春の土壤が解凍

する前の乾燥は著しい。このような乾燥立地でも、開芽していない落葉性の樹木にとって、乾燥からの回避は比較的容易である (BERG and CHAPIN, 1994)。したがって、落葉性はカラマツ属が永久凍土地帯を優占するのに適した樹種特性であると考えられる (酒井, 1995)。さらに、それぞれの分布地における立地ごとに、気温や土壤水分条件などの季節変化に対応した開芽および落葉の時期の決定が予測される。

カラマツ属は、幼木段階での光要求度が特に著しいため、その開芽と黄葉のタイミングは、分布可能な地域を決定づける重要な要因であると考えられる。同所的に植栽された個体の比較によると、開芽時期には樹種間の差はほとんど認められないが、黄葉と落葉の時期には顕著な差が認められることが知られる (佐々木ら, 1970; 倉橋, 1988; CARSWELL and MORGENSTERN, 1995)。樹木におけるこれらのフェノロジーの差は、産地の緯度に依存すると考えるのが一般的である (PAULEY and PERRY, 1954; VAARTAJA, 1959; 木佐貫・倉橋, 1999)。

2) 浅根性

広範囲に分布し、高木限界を形成する (OSTENFELD and LARSEN, 1930)、シベリアカラマツ、ダフリアカラマツ、アメリカカラマツに共通する特徴として、浅根性が挙げられる。北半球では高緯度であるほど、冬季間の低温と短い夏のために土壤凍結が著しく (酒井, 1995)、地表から永久凍土までの深さが浅い。このため、そこに生育する植物は、土壤が融解する短い期間に浅い表土から水分や養分の吸収を行う必要がある。ダフリアカラマツの変種グイマツとカラマツとの間で根の深さを比較すると、グイマツは浅根性のため乾燥抵抗性において劣るが、カラマツは深根性のため乾燥に対する抵抗性がある (倉橋ら, 1982)。ヨーロッパカラマツは心臓様根系で、比較的深根性を示す (LARCHER, 1999)。なお、ナガミカラマツ節樹種の根系については不明である。

3) 葉から枝への養分の転流率

落葉期における葉から幹への N の転流率をみると、カンバ属やハンノキ属などの落葉広葉樹やトウヒ属の常緑針葉樹では葉中に含まれる N の 52~58% が樹幹に転流されるのに対し、カラマツ属では平均 77% もの N が転流される (CHAPIN and KEDROWSKI, 1983; GROWER and RICHARDS, 1990)。葉から幹への養分転流率が高ければ、葉の寿命が短くても製造コストを低く押さえる必要がなく、光合成能力の高い葉をつけることが可能であると考えられる。したがって、カラマツ属における葉内養分の枝への転流率の高さは、土壤養分の貧しい環境での物質収支に寄与するものと考えられる。

4) 交雑能力の高さ

カラマツ属樹種には容易に雑種を形成する特性がある (OSTENFELD and LARSEN, 1930; 石原・松川, 1940; 高橋・柴田, 1961)。これは、同属の交配様式が風媒であることと、樹種間で開花期がほとんど重複することが一因となっている。

天然の集団間で生じた雑種は、進化の上で重要な役割を果たすことがあり (ARNOLD, 1992)、病害抵抗性の獲得につながることもある (WHITHAM, 1989)。また、自然界における雑種および戻し交雑の集団は、大規模な環境変動に対する適応能力が高いと考えられる (LANNER and PHILLIP, 1992)。カラマツ属では、数多くの樹種において地域集団内に形態変異が顕著に認められ、これらの変異は交雑に由来するとする説がある (DYLIS, 1961)。同属樹種を交配させると、雑種の種鱗数は両親種の間を示す連続的な変異が認められる。また、1年生枝が有毛の樹種と無毛の樹種との雑種では、有毛性の程度に大きな変異が認められた (木佐貫ら, 1994)。形態だけでなく、樹高

成長や耐病性、耐兎鼠性においても、雑種には優れた点が数多くみられる(倉橋, 1988)。同属樹種間の交雑能力の高さから、同属樹種間の生殖隔離機構には、地理的隔離が重要な役割を果たしているものと推察される。

5) カラマツ属の種特性

カラマツ属は、非常に広い範囲に分布するため、近縁な樹種間だけでなく同一樹種の地域集団間においても生理的特性が異なることが珍しくない。例えば、アメリカカラマツでは当年枝の成長停止期における日長反応に、分布地の緯度に応じた種内変異がみられる(VAARTAJA, 1959)。

被子植物の出現と分布拡大に伴い、針葉樹の大半の属が衰退の方向にあり、主に環太平洋地帯に遺存分布している(濱谷, 1995)。そのなかで、カラマツ属がマツ属、モミ属、トウヒ属などのマツ科属とともに広範な分布を示しているのは、カラマツ属の特性に示される環境適応能力の高さと交雑の容易さがもたらす高い種分化能力を有しているからだと考えられる。

4節 分子情報に基づくカラマツ属の系統

制限酵素の発見や、塩基配列決定法の開発以来、植物の系統を解明するために分子生物学的手法を用いた研究が発展してきた。この研究手法により、形態からだけでは推定することが困難とされてきた高次分類群から、親子などの極めて近縁な血縁関係にあるものまで、系統や類縁関係を解明することが可能となった。

カラマツ属とその他のマツ科属との関係についてみると、従来の形態分類では、カラマツ亜科にはカラマツ属とヒマラヤスギ属(*Cedrus*)およびイヌカラマツ属があり、いずれの樹種も系統的に近縁であると考えられてきた(濱谷, 1995)。しかし、葉緑体 DNA (cpDNA) の *rbcL* 遺伝子における塩基配列の比較(Chase *et al.*, 1993)、18sRNA 塩基配列の比較(Chaw *et al.*, 1997) や cpDNA の制限酵素断片長多型(STRAUSS *et al.*, 1990; Tsumura *et al.*, 1995) などの分子情報によって、カラマツ属に最も近縁なのはトガサワラ属(*Pseudotsuga*)であることが判明した。この事実は、受精と花粉の発達過程(CHRISTIANSEN, 1972; TAKASO, 1996)、免疫測定(PRAGER *et al.*, 1976; PRICE *et al.*, 1987)、形態および化学的な特徴(HART, 1987) などにおける生殖機能や生理学的特徴によっても裏付けられる。

分子情報を用いてカラマツ属の種間関係を推定する試みも行われている(KISANUKI *et al.*, 1995; QIAN *et al.*, 1995; GERNANDTA and LISTON, 1999)。形態分類によると、北アメリカ大陸に分布するアメリカカラマツ、タカネカラマツ、セイブカラマツは2節に分類される。しかし、cpDNA の RFLP によって得られた cpDNA タイプではこれらの樹種が一つにまとまり、形態分類と cpDNA タイプとの不一致が示された(KISANUKI *et al.*, 1995; QIAN *et al.*, 1995)。

カラマツの地域集団についても、DNA 分析による分類学的な解析が試みられた(白石ら, 1996)。宮城県蔵王山系の馬ノ神岳には北限のカラマツを産するが(戸沢ら, 1975)、カラマツの分布の中心からは 150 km 離れ、形態がグイマツに類似することなどから、その分類学的な位置づけを巡るさまざまな推測がみられる(矢野, 1994; 濱谷, 1995; 矢野, 1995; 戸沢, 1995; 織田, 1995)。この北限カラマツは、葉色や当年枝の色などの特徴においてグイマツとの共通点が多く、また、球果の特徴はマンシュウカラマツに近い(矢野, 1985)とされる。この北限カラマツについて DNA 分析を行った結果、このカラマツは特異な遺伝子群をもつものの、遺伝的にはカラマツに非常に近いことが明らかにされた(白石ら, 1995; 白石ら, 1996)。

このように、分子情報によって、カラマツ属の系統分類に関する研究は著しく発展している。その結果、北アメリカ大陸に分布する3樹種ではcpDNAタイプが形態分類と異なるなど、分類と分子系統との関係を検討する必要が生じたとともに、カラマツ属の起源と分化を解明するための重要な知見が得られた。

現在までに得られた分子情報から、カラマツ属のDNAには種間多型が少ないことが推測される。これは、交雑能力の高さから同属樹種は互いに近縁であると考えられることとも一致する。DNA分析技術は日進月歩に開発されており、これらを駆使して、分子系統の構築を行うことがカラマツ属の系統の解明に必要である。

2章 カラマツ属樹種のフェノロジー特性

植物は、分布地における気温、降水量および日長などの環境に適応している。この適応は、植物の発芽、開花、開芽、紅葉、落葉などの時期において顕著に認められることが多い。季節の変化に伴って生物に生じる現象は、生物季節すなわちフェノロジー (phenology) と呼ばれる。特に、温帯から寒帯にかけては季節変化が顕著であるため、植物のフェノロジーにはさまざまなパターンが認められる。

ある植物種について複数の産地から得られた種子の発芽時期をみると、産地ごとに発芽に必要な光や温度などの条件が異なることがある (PROBERT *et al.*, 1985)。また、ダグラスファー (*Pseudotsuga menziesii*) では、産地によって開芽時期が異なるものがあり、フェノロジーの異なる個体間では、開芽に必要な温度に差違があるものと考えられる (CAMPBELL and SUGANO, 1979)。さらに、フェノロジーの差違が、草本群落における優占度に影響することもある (AL-MUFTI *et al.*, 1977)。春に開芽してから秋に光合成を停止するまでの光合成期間が、植物のその後の生活に影響することが確認されている。例えば、シロトウヒ (*Picea glauca*) 苗の光合成期間は、枝と根における耐凍性および翌春の開芽時期に影響する (BIGRAS and Aoust, 1993)。また、フェノロジーの種内変異が明らかにされるにつれ、その形成機構に関する考察もなされている。例えば、シロトウヒとアカトウヒ (*Picea mariana*) では、種間や種内の産地間で開芽時期に変異が認められるが、これは芽を喰べる毛虫の活動時期から回避するように形成されたと考えられている (BLUM, 1988)。

カラマツ属のフェノロジーは、雑種に遺伝し、特に黄葉時期については交配親の中間を示すものが多い (倉橋, 1988)。すなわち、同属のフェノロジーは、遺伝形質である。同属のフェノロジーに影響する気象要因には、主に伸長成長と黄葉に対する日長 (浅田・佐藤, 1981; 小早川, 1944) や、開芽と開花に対する気温の積算値 (倉橋ら, 1966) が挙げられる。植物が伸長成長するのに必要な限界日長時間には、高緯度産地のものほど長くなることが知られており (PAULEY and PERRY, 1954)、カラマツ属の数樹種についても、このことが確認されている (小早川, 1944; 永田, 1966)。

本章では、開芽、開花、黄葉、落葉の時期を調べ、カラマツ属樹種のフェノロジー特性を解明した。さらに、繁殖の成功や分布の拡大に寄与すると考えられる種子の落下時期について、樹種間の差違を明らかにし、種子落下時期と他のフェノロジーとの関係について考察した。

1 節 カラマツ属樹種の開芽期および開花期における樹種間差

ある地域において、そこに生育する樹木の開芽や開花の時期は樹種によってさまざまである。また、同一樹種でも、生育場所や家系(WANG and TIGERSTEDT, 1996)によってそれらの時期には差違がみられる。開芽時期は、霜害などの気象要因のみならず、食葉性昆虫の生活史とも密接に関連する(BLUM, 1988; KOLB and KEULON, 1991)。

カラマツ属樹種の開芽パターンは、一斉型と順次型である(浅田・佐藤, 1981; KIKUZAWA, 1983)。同属樹種の冬芽には、輪生葉のすべてと長枝に生える葉の半分がすでに準備されている。道央部において、同属樹種は4月下旬から5月上旬に開芽し、その約1カ月後に長枝の伸長が始まる。

カラマツは霜害を受ける年があり(HAMAYA *et al.*, 1968; 倉橋ら, 1970)、これと関連の深い開芽時期がカラマツ属樹種を対象として調査された。その結果、開芽および開花の時期には、樹種間で大きな差異は認められなかった(HAMAYA *et al.*, 1968; 佐々木ら, 1970; 倉橋, 1988)。同属樹種のフェノロジーに影響する気象要因には、日長や気温が挙げられる(小早川, 1944; 只木ら, 1994)。特に、春季のフェノロジーは気温の積算値との関連が深い(倉橋ら, 1966)。

同属樹種の開芽期や開花期の調査は、主にカラマツとダフリアカラマツの変種が対象とされてきた。数多くの樹種について、複数個体を対象とした調査例は非常に少なく(CARSWELL and MORGENSTERN, 1995)、樹種間の差違や種内変異については未だ不明な点が多い。そこで今回、カラマツ属数樹種を対象として開芽および開花の時期を観察し、同属樹種の春季フェノロジー特性を明らかにした。

材料と方法

東京大学農学部附属演習林北海道演習林(以下、東大北演)の山部樹木園(北海道富良野市、北緯43度10分、東経142度18分、標高230m)およびそこから南東に約5km離れた東山育種樹木園(標高260m)に植栽されているカラマツ属7樹種4変種の各複数個体を調査対象とした(表-3)。山部樹木園における年平均気温は6.8℃、年降水量は1,230mmである。

表-3 カラマツ属樹種の花粉飛散が認められた個体数(1995年)

Table 3. The number of *Larix* individuals whose pollen dispersal were observed on each day in 1995

樹種	観 察 個体数	観 察 日 (1995 年)						
		4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/5	5/6
ヨーロッパカラマツ	14		2	5	6	12	6	
シベリアカラマツ	4				2	4	1	
グイマツ千島系	32	1	21	30	32	19	1	
グイマツ樺太系	9	2	7	8	8			
マンシュウカラマツ	6			2	5	5		
チョウセンカラマツ	10			2	8	9	4	
ホクシカラマツ	8			5	8	7		
カラマツ	8				1	6	3	
アメリカカラマツ	9				2	9		
トウカラマツ	1					1		

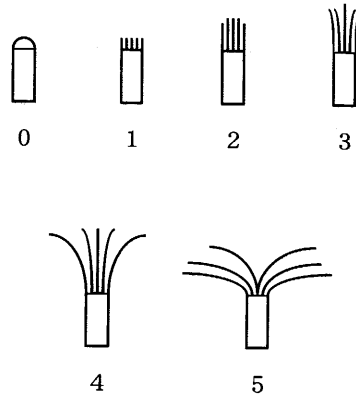


図-3 カラマツ属の短枝における開芽ステージ

Fig. 3. The stage of bud burst on *Larix* short shoots.

調査対象とした樹木は、樹種内でなるべく入手経路が異なるように選定したもので、いずれも植栽後 30 年以上経過した成木である。

1995 年 4 月 27 日から 5 月 6 日にかけて、花粉飛散および開芽の調査を、各個体の地上 2~3 m の枝を対象に行った。雄花が着果している枝を揺らすなどして花粉の飛散が確認されたものを、花粉飛散の状態にあるとした。また、開芽については、開芽の状態に応じて数値化した(図-3)。

結 果

1) 花粉飛散期

1995 年、東大北演ではカラマツ属だけでなく、数多くの針葉樹が豊作を示した。同属樹種の花
花粉飛散時期を比較するために、樹種ごとの頻度分布を示した(表-3)。

花粉飛散は 4 月 27 日から 5 月 5 日にかけて確認された。この期間の天候についてみると、4 月 27 日から 5 月 1 日にかけては晴れで風が強く、5 月 2 日と 5 月 5 日から 7 日にかけては連続した降雨があった。これ以外の日に降雨はなかった。5 月 8 日には全個体の花粉飛散が終了していたため、5 月以降に開花した個体の花粉飛散は 5 月 4 日までに終了したと考えられる。

花粉飛散期の変異についてみると、樹種間でみられる変異よりも、種内の個体間変異の方が大きかった。グイマツの花粉飛散期は、千島系、樺太系ともに一致し、他樹種よりもやや早かった。チョウセンカラマツ、マンシュウカラマツ、およびホクシカラマツの花粉飛散は、グイマツのそれよりも 1~2 日遅かった。ヨーロッパカラマツでは、花粉飛散が早い個体と遅い個体との間に 3 日間の開きがみられた。シベリアカラマツ、カラマツ、アメリカカラマツおよびトウカラマツでは、いずれの個体の花粉飛散も 4 月 30 日以降にみられ、比較的遅かった。

このように、花粉飛散期には個体間で多少の変異が認められたが、ほとんどの樹種間で重複していた。

2) 開芽期

開芽度を樹種間で比較するために、各開芽度に達した日の頻度分布を樹種ごとに示した(表-4)。なお、開芽は開花とほぼ同時に始まった。

表-4 カラマツ属樹種における各開芽度に到達した個体数の頻度分布 (1995年)

Table 4. The frequency distribution of *Larix* individuals reached to each stage of the buds burst in 1995

開芽度	樹種	観察 個体数	観察日 (1995年)					
			4/27	4/28	5/1	5/5	以降	
開芽度 1	ヨーロッパカラマツ	14	11	2	1			
	シベリアカラマツ	4	1	2	1			
	グイマツ千島系	32	27	3	2			
	グイマツ樺太系	9	9					
	マンシュウカラマツ	6	4	1	1			
	チョウセンカラマツ	10	6		4			
	ホクシカラマツ	8	8					
	カラマツ	8	1		2		5	
	アメリカカラマツ	9	6		3			
トウカラマツ	2	1	1					
開芽度 2	ヨーロッパカラマツ	14		1	13			
	シベリアカラマツ	4			3		1	
	チョウセンカラマツ	10			9		1	
	グイマツ千島系	32	2	10	20			
	グイマツ樺太系	9	8		1			
	マンシュウカラマツ	6			6			
	ホクシカラマツ	8	6	1	1			
	カラマツ	8			2		5	1
	アメリカカラマツ	9			7		2	
トウカラマツ	2			2				
開芽度 3	ヨーロッパカラマツ	14			5	8		1
	シベリアカラマツ	4			2	2		
	グイマツ千島系	32		1	28	3		
	グイマツ樺太系	9		2	6	1		
	マンシュウカラマツ	6			1	5		
	チョウセンカラマツ	10			3	7		
	ホクシカラマツ	8		1	5	2		
	カラマツ	8			2	1		5
	アメリカカラマツ	9				4		5
トウカラマツ	2				2			

* The stage of buds burst is shown in Fig. 3.

開芽度を比較すると、グイマツ樺太系とホクシカラマツの開芽が早く、カラマツの開芽が遅かった。材料のなかで最南端に分布するトウカラマツの開芽は、他のほとんどの樹種と同時期に始まり、その進展も同様だった。開芽の進展は、開芽度 1 において樹種間でみられた開芽の遅早がほぼそのまま開芽度 3 における遅早に反映されていた。

考 察

カラマツ属の開花は春の積算温度の影響を顕著に受けるため (倉橋ら, 1966), 各樹種の開花時期は年によって変動する。同属の開花時期は、春季の気温が高い年には樹種間で分散することが多く、春季の気温が低い年には樹種間で重複することが多い。グイマツの開花はカラマツの開

花よりも早い、両樹種の開花が重複する年があれば、全く重ならない年もあり、開花時期の変動は天然雑種の出現率に影響を及ぼす(倉橋, 1988)。これは、カラマツ属では開花フェノロジーによる樹種間の生殖隔離機構が生じていないことを示唆する。

ある地域において近縁な植物種同士で開芽フェノロジーが異なるのは、食葉性昆虫の生活史などと密接に関連して生じた結果である場合がある(KOLB and KEULON, 1991)。針葉樹では同一樹種であっても、開芽時期の家系間変異が認められることが珍しくない(WANG and TIGERSTEDT, 1996)が、カラマツ属の開芽および開花の時期には樹種間ですら顕著な差は認められなかった。

北海道に植栽されたカラマツは霜害を受けることがあり、開芽時期は自生地において霜を回避するように決められてきたと考えられる。カラマツ属樹種の開芽時期をみると、個体間で開芽時期にずれが認められたが、それは2~3日程度のわずかなものだった。この程度の違いでは、霜害や食葉性昆虫の食害を回避するための樹種間差や産地間・家系間の変異があるとは考えにくい。さらに、北緯30度付近の低緯度に分布するトウカラマツの開芽時期が、主に北緯50度以北に分布するシベリアカラマツをはじめ、数多くの他樹種とほぼ同時だったことは、同属の開芽が気温だけによって促進されることを示唆する。

2節 カラマツ属樹種の黄葉期および落葉期における樹種間差

落葉樹の葉は一般に、日長が短くなったり気温が低下するなどの影響を受けて紅葉する(WAR-ING and PHILLIPS, 1981)。同じ樹種でも、分布緯度の異なる地域集団間で比較すると、日長反応に変異が認められることがある(PAULEY and PERRY, 1954)。

カラマツ属樹種を同所的に植栽し、フェノロジーを比較した例は極めて少ない(CARSWELL and MORGENSTERN, 1995)。そのため、同一環境下における各樹種のフェノロジー特性の差違は明確にされていない。同属は北半球の広大な範囲に分布し、そのほとんどが寒冷乾燥地帯であるため、秋季フェノロジーは分布緯度と結びついた日長に適應していると予測される。

木佐貫・倉橋(1999)は、苗木を用いてカラマツ属樹種のフェノロジー観察を行い、フェノロジーと分布緯度との関係を解明した。倉橋(1988)は、同属樹種の交配家系ごとに苗木のフェノロジーを観察し、秋季フェノロジーが両親種の間を示す遺伝形質であることを示した。一方、カラマツの日長に対する反応は、加齢に伴って変化する(浅田・佐藤, 1981)。また、冬期間に積雪下にあるサイズの小さい植物では、融雪時期に応じて開芽時期が決まり、葉の寿命に変化を来す(KIKUZAWA and KUDO, 1995)。このためフェノロジー観察にあたっては、加齢に伴うフェノロジーの変化や、融雪時期による葉の寿命の変化を考慮する必要がある。

そこで、同所的に植栽されたカラマツ属樹種の成木を対象に、黄葉および落葉時期の調査を行い、秋季フェノロジーの樹種間差を解明した。

材料および方法

東大北濱の山部樹木園および東山育種樹木園に植栽されているカラマツ属7樹種4変種の各複数個体を調査対象とした(図-4, 表-5)。調査木には、各樹種ごとになるべく入手経路が異なる、植栽後30年以上経過した個体を用いた。

黄葉および落葉の程度を、それぞれの状態が樹冠に占める割合に応じて、1:0-20%, 2:20-50%, 3:50-80%, 4:80-100%, 5:100%の5段階に評価した。各個体を対象として黄葉の段

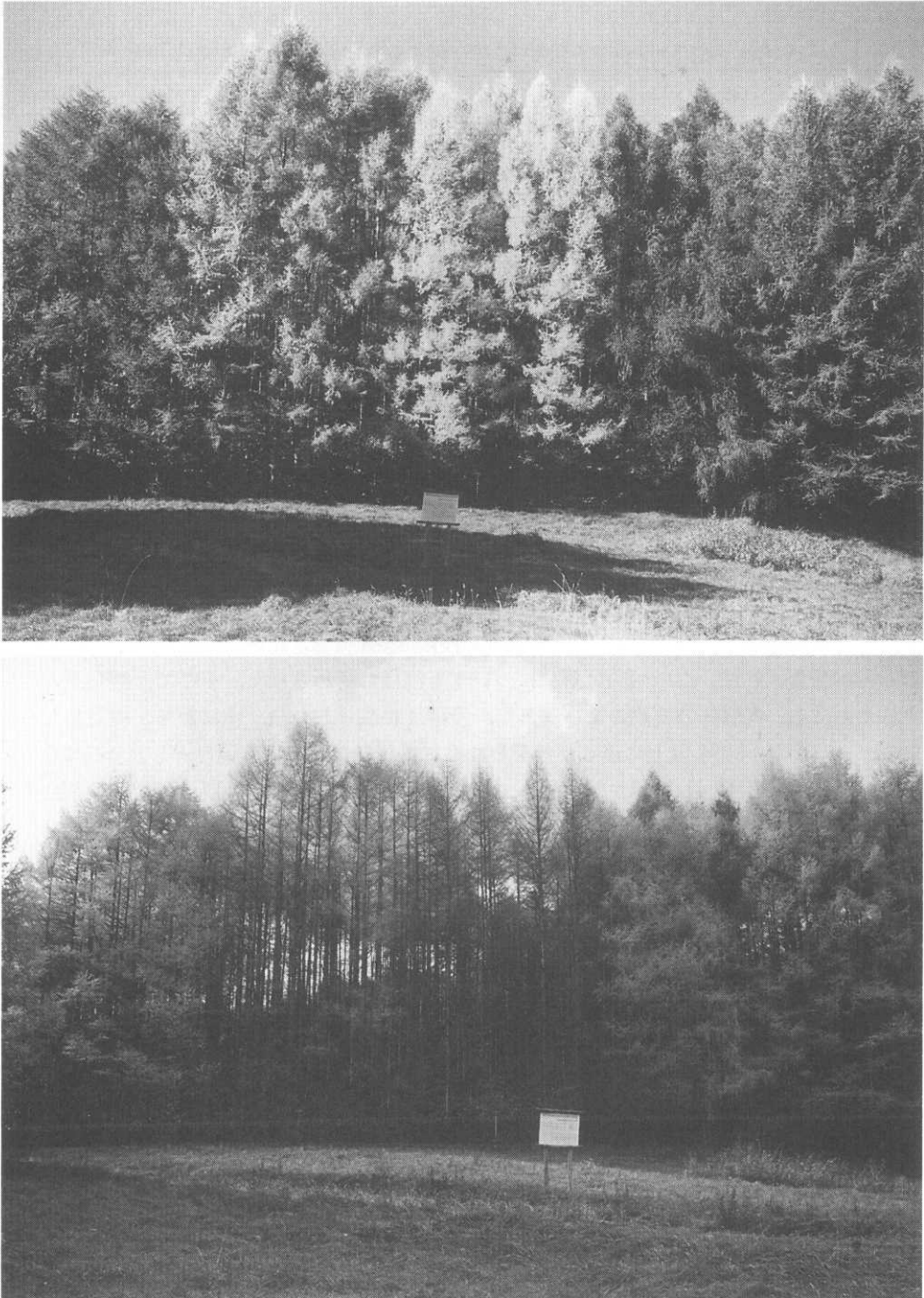


図-4 カラマツ属樹種の黄葉および落葉の進展

Fig. 4. Needle coloring and defoliation of several *Larix* species. Above, October 16, 1994; Below, November 5, 1994.

表-5 フェノロジー調査を行ったカラマツ属樹種

Table 5. *Larix* samples observed for their needle coloring and defoliation

樹種名	略号	個体数
カラマツ節		
ヨーロッパカラマツ <i>L. decidua</i>	DEC	16
ポーランドカラマツ <i>L. decidua</i> var. <i>polonica</i>	POL	2
シベリアカラマツ <i>L. sibirica</i>	SIB	13
グイマツ樺太系 <i>L. gmelinii</i> var. <i>japonica</i>	JAK	27
グイマツ千島系 "	JAS	18
マンシュウカラマツ <i>L. gmelinii</i> var. <i>olgensis</i>	OLM	9
チョウセンカラマツ "	OLK	16
ホクシカラマツ <i>L. gmelinii</i> var. <i>principis-rupprechtii</i>	PRI	8
カラマツ <i>L. kaempferi</i>	KAE	14
アメリカカラマツ <i>L. laricina</i>	LAR	6
ナガミカラマツ節		
トウカラマツ <i>L. potaninii</i>	POT	2
セイブカラマツ <i>L. occidentalis</i>	OCC	2

階の変化をみると、段階1から段階2になるのに要する日数においては大きい個体間差が認められた。一方、段階3から段階4にかけての日数には、個体間差はほとんど認められなかった(図-5)。実際の観察は10%単位で測定したが、段階1~3では、観察日の天気によって影響を受けることが懸念された。この傾向は落葉についても同様に認められた。そこで、観察誤差を少なくするためにも、各個体の黄葉および落葉が、段階4に到達した日、すなわち、樹冠当たりの黄葉ならびに落葉が、80%以上に達した日をそれぞれ黄葉日ならびに落葉日とした。これらの調査を1994年9月から12月にかけて、原則として黄葉期は週3回、落葉期は週2回の割合で行った。

結果

1) 黄葉

カラマツ属樹種の黄葉時期にみられる樹種間差を明らかにするために、黄葉日の頻度分布を樹種ごとに示した(図-6)。ただし、観察木が2個体だけのトウカラマツとセイブカラマツについては図示しなかった。黄葉日が最も早かったのはロシアのシベリア平原 Listrenniza 産のシベリアカラマツ(S-367)だった。同樹種の黄葉は概して早く、Krasnoyarsk(北緯56°)産の個体(S-316)が種内で最も遅かった。

黄葉日が高い樹種はシベリアカラマツ、チョウセンカラマツ、およびマンシュウカラマツであり、これらの黄葉日のピークは10月21日だった。ホクシカラマツにも黄葉日が高い個体があったが、遅い個体との間には1ヶ月以上の開きがみられた。一方、黄葉日が高い樹種は、ヨーロッパカラマツ、カラマツ、アメリカカラマツ、およびトウカラマツで、これらの黄葉日のピークは11月6日から8日にかけてだった。

トウカラマツの黄葉日は、観察木のなかで最も遅く、葉が黄色化せずに褐変した。グイマツ樺太系はカラマツ属全体のなかで中間を示したが、グイマツ千島系にはグイマツ樺太系に近いものと遅いものの二つのピークがあった。チョウセンカラマツとマンシュウカラマツは、黄葉日を示

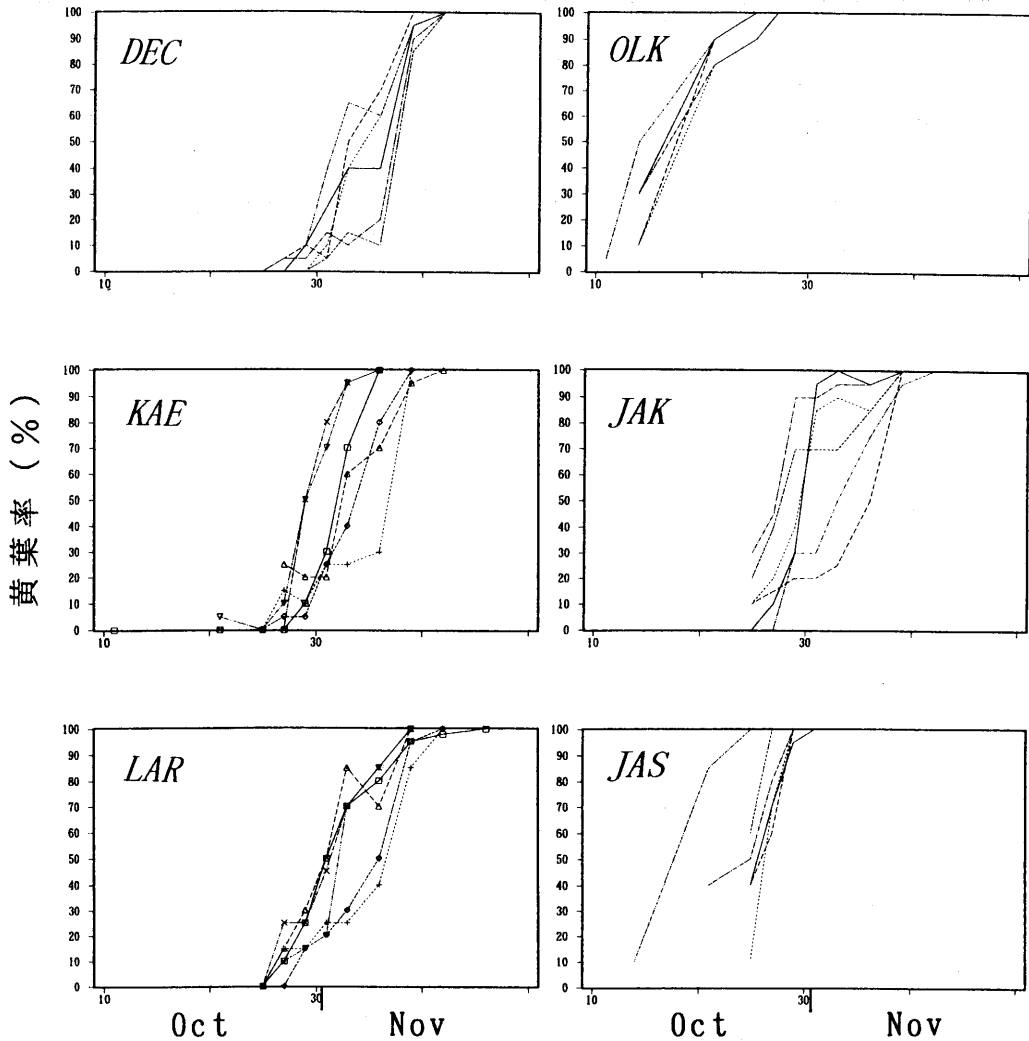


図-5 カラマツ属の各樹種および各個体における黄葉率の時間変化の例

Fig. 5. Examples of the temporal changes in the ratio of needle coloring in each *Larix* individual of each species.

した個体が最初に出現した日、最後に出現した日、ピークのいずれにおいてもほぼ同様の頻度分布を示した。ホクシカラマツについては、フェノロジーの早い個体、中間の個体、遅い個体の3タイプがみられた。観察個体数は少ないが、ポーランドカラマツの黄葉は、同樹種よりも分布緯度の低いヨーロッパカラマツよりも早かった。ヨーロッパカラマツはトウカラマツを除く樹種のなかで、最も遅く黄葉日のピークを示した。

2) 落葉

カラマツ属の落葉時期における樹種間差を明らかにするために、落葉日の頻度分布を樹種ごとに示した(図-7)。同属樹種の落葉日の頻度分布には、二つの顕著なピークが認められた。一つは

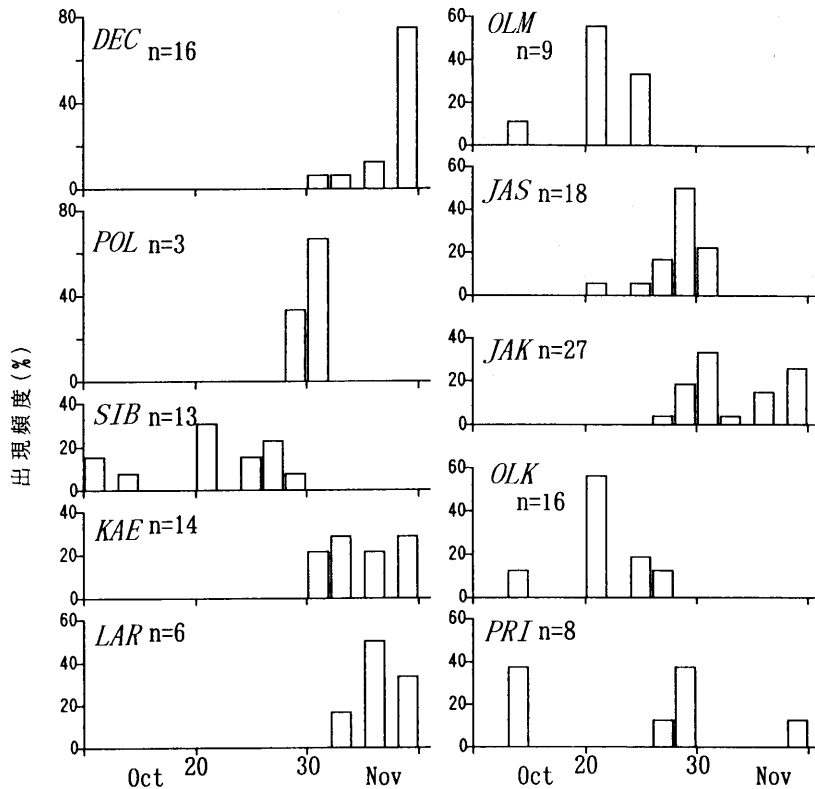


図-6 カラマツ属樹種の黄葉日の頻度分布

Fig. 6. The frequency distribution of *Larix* individuals which over 80% of whole needles had turned yellow.

10月29日で、主にマンシュウカラマツおよびシベリアカラマツの個体で構成されていた。別のは11月5日から8日にかけてで、主にシベリアカラマツ、グイマツ千島系、グイマツ樺太系、およびマンシュウカラマツの個体で構成されていた。

落葉日が遅い樹種は、ヨーロッパカラマツ、カラマツ、アメリカカラマツ、およびトウカラマツだった。

シベリアカラマツ、マンシュウカラマツ、およびチョウセンカラマツの落葉日には、それぞれ二つのピークが認められた。ホクシカラマツの落葉日は、黄葉日の場合と同様に三つに分かれた。グイマツ樺太系では、11月8日までに全個体が落葉日を迎えた。一方、グイマツ千島系では落葉日のピークは11月8日で、11月下旬まで落葉日を示す個体がみられた。

落葉の進展をみると、落葉日の早い樹種ではすべての葉が容易に落葉したが、落葉日の遅い樹種では全ての葉が落葉するまでに非常に長い日数を要した。

3) フェノロジー出現日と分布緯度との関係

カラマツ属樹種の黄葉の時期と、各樹種の分布緯度との関連性をみるために、各樹種の黄葉日と分布緯度との関係を示した(図-8)。なお、産地の緯度が不明な個体が含まれる樹種については、樹種の分布域の中心における緯度を用いた。その結果、低緯度に分布する樹種ほど黄葉日が

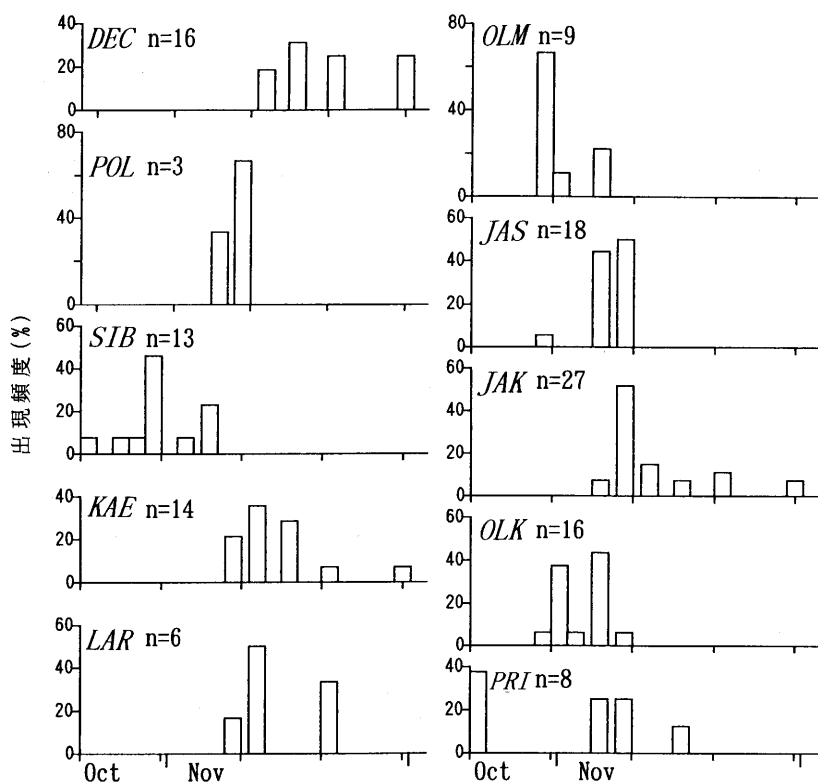


図-7 カラマツ属樹種成木の黄葉日の頻度分布

Fig. 7. The frequency distribution of *Larix* individuals whose needles had defoliated over 80%.

遅い傾向があった。しかし、北緯 40 度以上に分布する樹種に限ると、この傾向が認められないものも数多かった。例えば、チョウセンカラマツおよびマンシュウカラマツの黄葉日のピークは、それらよりも高緯度に分布するヨーロッパカラマツ、セイブカラマツ、およびポーランドカラマツの黄葉日のピークよりも早かった。

次に、各樹種の分布緯度と落葉日との関係を示した(図-9)。産地緯度の不明な個体が含まれる樹種については、分布域の中心における緯度を用いた。総体的に、分布緯度が低い樹種ほど、落葉日が遅くなる傾向がみられた。ただし、落葉日には黄葉日より種内変異が著しく認められた。

考 察

1) 低緯度に分布する樹種

トウカラマツは、供試材料に含めなかったヒマラヤカラマツやシセンカラマツとともに、カラマツ属のなかで最も低緯度地域に分布する。同樹種の黄葉および落葉は供試樹種のなかで最も遅く、その葉は黄色化せずに褐変した。これは、トウカラマツの分布緯度(北緯約 31 度)が植栽地である東大北濱の緯度(北緯 43 度)よりもかなり低いために、同樹種の葉が耐凍性を獲得する日長に達する前に、葉が低温障害を受けたものと考えられる。また、カラマツの黄葉には、秋季における低温が大きく影響するとされる(只木ら, 1994)。トウカラマツの天然分布地域における

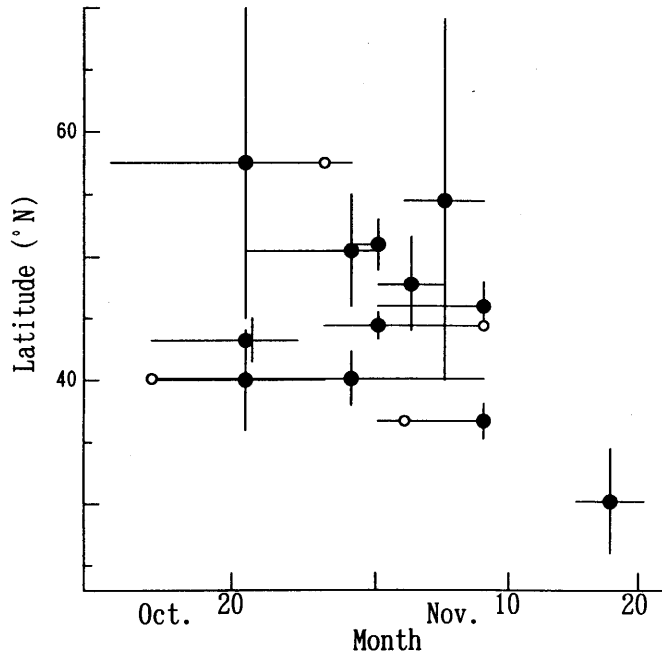


図-8 カラマツ属樹種の分布緯度と黄葉日との関係

Fig. 8. The relation between the latitude of *Larix* distribution and the peak of the date among each individuals when over 80% of whole needles had turned yellow in each species.

* Vertical lines indicate each distribution range of *Larix* species. Horizontal lines indicate the duration of the date when over 80% of whole needles had turned yellow in each individual in each *Larix* species. ●: the cross point of the center of distribution with the peak of the needle coloring date in each *Larix* species. ○: the second peak of the needle coloring date if there was.

フェノロジーについては不明だが、自生地よりも高緯度の寒冷地においてその黄葉過程が鈍重であることは、同樹種の黄葉には気温よりも日長の影響が大きいことを示唆する。葉が低温によって褐変する場合、葉から枝への養分転流が不完全になるものと予想され、物質収支の上で損失であると考えられる。実際、東大北演に植栽された同樹種では、着葉期間が最も長いにもかかわらず、その樹高成長速度は遅い。また、トウカラマツはcpDNAレベルで他樹種と異なるタイプに属することから (KISANUKI *et al.*, 1995)、葉緑体に関する日長反応や低温に対する樹種特異的な反応経路をもつ可能性が類推される。

2) 中国東北部からオホーツクにかけて分布する樹種

マンシュウカラマツおよびチョウセンカラマツは、*L. gmelinii* var. *olgensis* の中国東北部および朝鮮半島北部における地理的変異として区別されるが、それぞれが変種に分類されることもある (王・張, 1992)。両者のフェノロジーには顕著な差異は認められなかったが、これは両者の分布地が互いに隣接するため、分布緯度がほぼ同じであることが起因していると考えられる。

グイマツについては、千島系と樺太系との間でフェノロジーに違いが認められた。グイマツ千島系では黄葉の早いものと遅いものに明確に分かれたのに対し、グイマツ樺太系では黄葉、落葉ともに早かった。このことから、グイマツ千島系の供試個体は複数の地域集団に由来する可能性

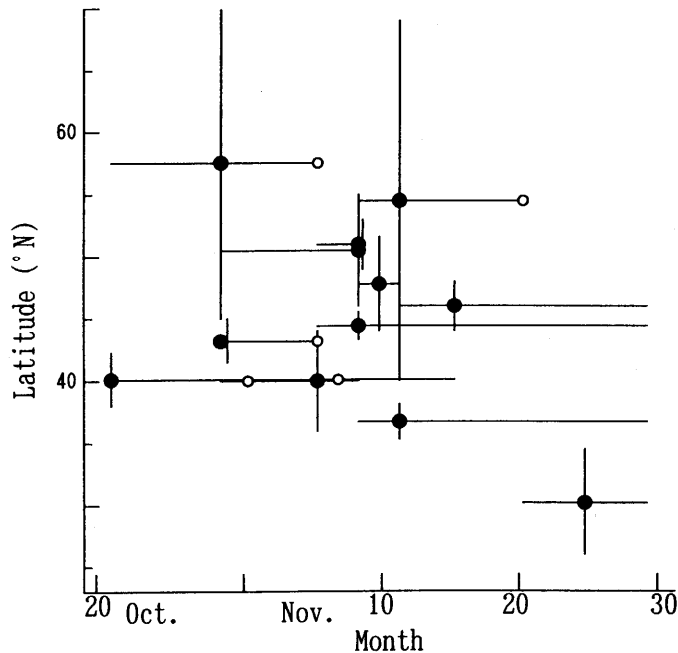


図-9 カラマツ属樹種の分布緯度と落葉日との関係

Fig. 9. The relation between the latitude of *Larix* distribution and the peak of the date among each individuals when over 80% of whole needles had defoliated.

* Vertical lines indicate each distribution range of *Larix* species. Horizontal lines indicate the duration of the date when over 80% of whole needles had defoliated in each individual in each *Larix* species. ●: cross point of the center of distribution with the peak of the defoliated date in each *Larix* species. ○: the second peak of the needle coloring date if there was.

がある。クリルにおけるグイマツの分布は、択捉島とその南方約 75 km に位置する色丹島にみられる（館脇ら，1965）。グイマツ千島系の二つの集団はそれぞれ別々の島を産地とする可能性が考えられる。また、マンシュウカラマツおよびチョウセンカラマツはグイマツよりも低緯度に分布するが、それらの黄葉と落葉はグイマツのそれよりも早かった。グイマツは主に島嶼や沿岸部に分布するのに対し、マンシュウカラマツおよびチョウセンカラマツは大陸内陸部に分布する。両者の自生地における生育環境の違いが、それぞれの耐凍性の季節性に差違をもたらし、黄葉過程の差違につながったものと考えられる。

3) ヨーロッパの樹種

ヨーロッパカラマツは北緯 45 度以北の比較的高緯度地域に分布する。同樹種の黄葉および落葉は、より低緯度に分布する数多くの樹種のそれよりも遅かった。自生地よりも低緯度である北海道では、日長が短くなり始めるのが早い。このため、ヨーロッパカラマツの黄葉は自生地よりも早くなることが予測されるが、実際は遅かった。したがって、同樹種が黄葉するのは、日長よりも気温の影響が大きい可能性がある。

同樹種の分布は、ユーラシア大陸西部である点で他樹種の分布とは異なる。大陸レベルの分布の差違は、ヨーロッパカラマツの分布地における生育環境と他樹種のそれとの間に違いを生じさせているものと予想される。この生育環境の違いが、ヨーロッパカラマツに特異なフェノロジー

特性をもたらした可能性が考えられる。

化石記録に基づく地史レベルの推測によると、カラマツ属が分布を拡大する過程で、ヨーロッパに到達したのは現在の分布地のなかでも最も遅かったとされる (LEPAGE and BASINGER, 1991)。ヨーロッパカラマツは、同属がユーラシア大陸を西進する過程で、大陸西部に特有な環境に適応した樹種として生じたのかもしれない。

4) 北アメリカ大陸の樹種

北アメリカ大陸の樹種としてアメリカカラマツとセイブカラマツとを観察したが、特に顕著な傾向は認められなかった。アメリカカラマツの分布範囲は非常に広く、高緯度産の同樹種の限界日長時間は、低緯度産のそれよりも長い (VAARTAJA 1959)。このように、分布範囲が広い樹種では、分布緯度に応じた限界日長における種内変異があるものと考えられる。

5) カラマツ属の黄葉と落葉の時期に樹種間差が生じた要因

植物の成長や黄葉には日長が影響することが多いが、カラマツ属樹種における黄葉や落葉は、分布緯度すなわち日長だけでは明快に説明されなかった。これらのフェノロジーの差違には、その樹種の分布地が大陸の西部か東部かという違いや、内陸部か島嶼などの沿岸部かという違いから生じる、分布地における気候の差違も関与するものと考えられる。

日長以外の要因として気温についてみると、カラマツが黄葉するには、日平均気温が 11°C 以下の日が 13 日以上に達し、そのうち最低 2 日は 8°C 以下になることが必要であると推測されている (只木ら, 1994)。黄葉は気温の低下に伴って起こる葉緑体の分解を反映しており、この分解のしやすさは細胞質に含まれる糖類などの物質組成と深い関係にあるものと考えられる。カラマツ属の葉中に含まれる *N* の動態を分析した例では、セイブカラマツでは葉に含まれる *N* のうち約 86% が落葉前に枝へ転流され、カラマツ属の平均では 77% の養分が転流される (CHAPIN and KEDROWSKI, 1983)。一方、カバノキ属やハンノキ属などの落葉広葉樹のそれは平均 52%、常緑針葉樹であるトウヒ属のそれは平均 58% に過ぎない (CHAPIN and KEDROWSKI, 1983)。したがって、黄葉時期の遅早は、養分の転流時期とも関連するため物質収支の上で重要である。黄葉をもたらす要因を解明するためには、葉中に含まれる糖類などについての養分分析を行い、樹種間で比較する必要がある。また、気温に対する同属樹種の葉の反応が樹種ごとに異なるようになった要因を解明するためには、各樹種の分布地における黄葉日と秋季の気温との関係を綿密に調査する必要がある。

落葉日については黄葉日より産地緯度との関係が明瞭ではなかった。落葉は葉と枝の間にある離層細胞が分離して起こるが、強風や落雪が契機となって集中的に起こることが多い。このような偶発的な気象要因が落葉日に影響するため、落葉日と産地緯度との関係が不明瞭になったのだと考えられる。

3 節 カラマツ属樹種の種子落下時期における樹種間差

種子散布は、植物にとって遺伝子の分散に直接寄与することから、繁殖の過程において重要なステージである。種子が生育適地に到達する確率が高くなるためには、気温、風などの季節的な環境に適した種子散布が必要である。また、種子の発芽と定着は、更新過程において環境変化に対して最も敏感な段階である (ANGEVINE and CHABOT, 1979)。このため、果実および種子の形態や成熟時期における適応戦略に関する数多くの研究が行われてきた (HOWE and SMALLWOOD,

1982)。例えば、動物散布種子をもつ植物の果実および種子の成熟時期には顕著な変異が認められることが多く、それは果実の捕食者でもある動物の採餌行動の時期と密接に関連している (THOMPSON and WILLSON, 1979; HOWE and SMALLWOOD, 1982; WILLSON, 1988)。一方、風散布種子については、種子の形態と散布の潜在力との関係 (AUGSPURGER, 1986)、種子の形態と落下する際の回転様式との関係 (McCUTCHEN, 1977)、空中湿度と球果からの種子の離脱との関係 (GREENE and JOHNSON, 1992) や、風速と散布距離との関係 (GREENE and JOHNSON, 1989) など、機能的な特性が主に解明されてきた。一般に、風散布種子の散布に関与するのは風速や湿度である。動物に直接散布されないとはいえ、風散布種子には動物や昆虫にとって格好の食料であるものも少なくないと考えられ、種子の成熟時期や散布時期には気象要因のみならず動物の食性による選択圧が働くものと予想される。したがって、風散布種子の落下時期にも樹種ごとに何らかの傾向があるものと思われる。しかし、風散布種子の落下時期に関する知見は極めて少ない。

樹木種子の成熟および落下のスケジュールは、樹種によってさまざまである。冷温帯に分布し風散布種子をもつ樹種についてみると、オヒョウ、ハルニレ、ヤナギ属、ポプラ属などでは、開花結実の後、短期間で種子が成熟し、夏までに落下する。一方、マツ属の樹木では種子が成熟するのに受精後2年間の長期間を要する。道内の自生種では、開花年の秋以降に種子が成熟するものが大半を占める (佐々木, 1984)。このように、種子の成熟過程は樹種によって多様である。

落下した風散布種子の挙動は、落下時期における気温や積雪の有無などの季節的環境に大きく影響されることがある。カバノキ属の種子は通常開花した翌年に発芽するが、シラカンバの種子散布は秋から翌春にかけての長期間におよび、秋の早い時期に落下した種子のなかには気温などの条件が合えば当年に発芽することがある (小山, 1998)。また風散布種子ではないが、ブナの種子では、生育地における冬季の積雪期間に応じて湿度条件や捕食者密度の差違が生じるため、地域によって死亡率が異なる (SHIMANO and MASUZAWA, 1995)。このように、種子がいつ落下するかは、発芽時期のみならず被食や乾燥とも関連するため、種子が実生として定着するうえで非常に重要であると考えられる。

カラマツ属樹種の種子は、他の数多くのマツ科樹種と同様に風散布される。同属樹種における黄葉や落葉の時期には、樹種間に比較的明瞭な差違が認められる (2章2節)。同属では球果が初秋に成熟した後、乾燥すると種鱗が開出し、種子が落下する。落葉は枝と葉との間に離層が形成されることで起こるため、球果の乾燥と何らかの関連があるものと予想される。このため、種子の落下時期には、フェノロジーと同様に樹種間に差違があることが類推される。また、種子の落下時期は、黄葉や落葉の時期の遅早と対応しているのではないかと考えられる。

今回、同一環境下に植栽されたカラマツ属樹種について種子の落下時期を調査し、(1)カラマツ属樹種の種子落下時期に樹種間の違いは認められるのか、(2)種子の落下時期は、黄葉や落葉などの時期と関係があるのか、(3)種子の落下時期は生態的な意味をもつのかについて解明した。

材料と方法

カラマツ属樹種の種子落下時期を明らかにするために、4樹種5変種26個体について種子の落下調査を行った (表-6)。調査木には、東大北演の山部樹木園から東山育種樹木園にかけて植栽されている、樹齢30年~40年のものを選定した。

1995年9月から同年11月にかけて、各個体ごとに生枝に着果した球果十数個について、種子

表-6 種子落下調査を行ったカラマツ属樹種
Table 6. *Larix* materials used for the observation on the seed dissemination

樹 種	略 号	本 数	登録番号	個体番号	備 考	
ヨーロッパカラマツ	DEC	4	S-602	D-1		
			S-602	D-2		
			S-602	D-3		
			S-602	D-4	推定雑種	
シベリアカラマツ	SIB	1	S-350	S		
グイマツ千島系	JAK	7		Gk-10	道内選抜クローン	
				Gk-2	道内選抜クローン	
				Gk-3	道内選抜クローン	
				Gk-9	道内選抜クローン	
				Gk-OB	フェノロジー観察木	
				V-544	V-544	連年着果個体
				V-84	V-84	北演選抜クローン
グイマツ樺太系	JAS	4	V-298	V-298	北演選抜クローン	
			V-300	V-300	北演選抜クローン	
			V-551	V-551	北演選抜クローン	
			V-552	V-552	北演選抜クローン	
				V-80	Gm	
マンシュウカラマツ	OLM	1	V-78	V-78		
チョウセンカラマツ	OLK	2	S-1292	Gp		
ホクシカラマツ	PRI	1	G-1438	IFL	連年着果個体	
カラマツ	KAE	3	V-307	V-307	精鋭樹	
			G-1131	G-1131	道内選抜クローン (空知)	
			G-1524	G-1524		
			S-599	La-1		
			S-599	La-2		

落下を月3回の割合で観察した。1個体当たり数本の枝を選定し、その枝に着果しているすべての球果について種子落下数の程度を記録した。時間の経過とともに、観察途中で落下する球果や、鳥や小動物などの被食によって消失する球果が生じたため、観察方法を次のように変更した。すなわち1995年11月から翌年2月まで、月1回の割合で各個体から球果10個を採取し、種子の落下数を調べた。

球果の採取は、樹冠の中部から下部にかけての被害や変形が少ないものに限定した。得られた球果を1個ずつ柔軟な紙で軽く包み、室内で数日間自然乾燥させた。乾燥によって種鱗が開出した球果が多く、それらでは種子の遊離が認められた。遊離した種子を除いた、球果内に残った種子数を球果残留種子数として計測した。球果1個ごとに種鱗数、遊離した種子数、球果残留種子数を測定した。種鱗数の2倍を総種子数とした。採取時点で落下していた種子数は、総種子数から、遊離した種子数と球果残留種子数を除いて算出した。

$$\text{総種子数} = \text{球果残留種子数} + \text{落下種子数} + \text{自然乾燥後の遊離種子数}$$

アメリカカラマツでは、球果の中心部分およびその下部では大きい種子が生産されるが、球果の基部と上部ではほとんどの種子が小さいのである (DUNCAN, 1954)。球果の基部および先端の短い種鱗に含まれる種子は非常に小さいため、発芽力は極めて低いものと考えられる。本研究では、

短い種鱗に含まれる小さい種子を種子数に含めなかった。

種子落下時期とフェノロジーの遅早との関係を検討するために、各個体の黄葉および落葉の時期を1995年9月～11月の期間、週2回の割合で調査した。なお、各フェノロジーが樹冠あたり80%に達した日をそれぞれその個体における黄葉日、落葉日とした(木佐貫・倉橋, 1995)。

結 果

1) 種子の落下時期

種子落下の初期段階について、各個体ではじめて種子落下が認められた日ならびに種子落下率が20%以上に達した日を表-7に示した。種子落下が最も早く確認されたのは9月13日で、チョウセンカラマツ、アメリカカラマツおよびグイマツなどの樹種だった。一方、種子落下の開始が最も遅く確認されたのはヨーロッパカラマツ(D-1)で11月19日だった。このように、種子落下の開始時期には、早い個体と遅い個体との間に約2カ月間の差がみられた。

各樹種における種子落下の最盛期をみるために、各個体の球果10個について種子落下率を算

表-7 カラマツ属の各個体で初めて種子落下が確認された種子落下開始日および種子落下率が20%以上に達した20%種子落下日

Table 7. The date of first seeds or 20% seeds in ten cones had fallen in each *Larix* individual

樹 種	略 号	落下開始日	20%落下日 (1995年-1996年)
グイマツ千島系	Gk-10	9/13	9/13
グイマツ千島系	Gk-2	9/13	9/13
グイマツ千島系	Gk-3	9/13	9/13
グイマツ千島系	Gk-OB	9/13	9/13
チョウセンカラマツ	V-78	9/13	9/13
アメリカカラマツ	La-1	9/13	9/22
アメリカカラマツ	La-2	9/13	9/22
グイマツ樺太系	V-298	9/13	9/22
グイマツ樺太系	V-300	9/13	9/22
グイマツ千島系	V-84	9/13	9/22
グイマツ千島系	Gk-9	9/13	9/22
グイマツ樺太系	V-551	9/13	10/1
アメリカカラマツ	G-1524	9/13	11/6
グイマツ樺太系	V-552	9/13	11/6
シベリアカラマツ	S	9/22	9/22
グイマツ千島系	V-544	9/22	10/1
ホクシカラマツ	Gp	9/22	11/6
ヨーロッパカラマツ	D-2	9/22	(2/29)*
マンシュウカラマツ	Gm	10/10	11/16
カラマツ	IFL	11/6	1/17
カラマツ	V-307	11/6	12/12
ヨーロッパカラマツ	D-4	11/16	1/17
ヨーロッパカラマツ	D-1	11/19	(2/29)*
ヨーロッパカラマツ	D-3	—	12/12

—: No data.

*: The ratio of seeds released from cones to the total number of seeds had not exceeded 20% by February 29, 1996.

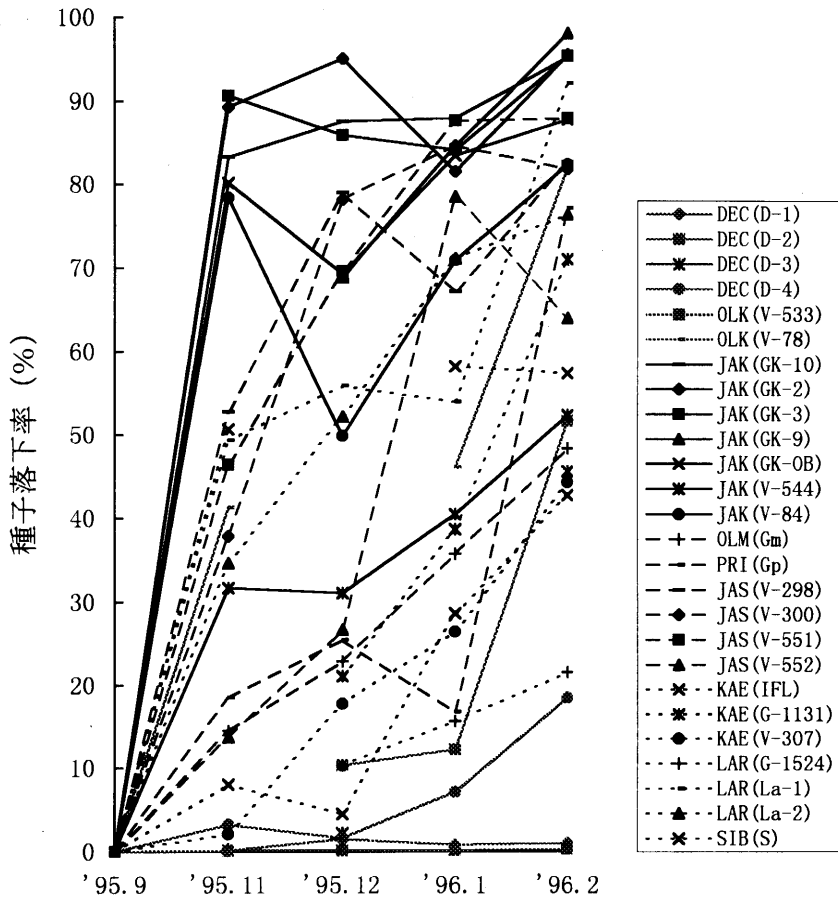


図-10 カラマツ属樹種の各個体の球果 10 個について得られた種子落下率の平均値の経時変化

Fig. 10. The temporal change of the average ratio of fallen seeds to total number of seeds in ten cones in each *Larix* individual.

出し、その平均値の経時変化を図-10に示した。グイマツでは種子の落下が始まってから急激に落下が進んだ。特にグイマツ千島系の種子落下が早く、11月8日の降雪前に、ほとんどの個体で球果中の種子の約80%が落下した。なお、この年の東大北演の山部樹木園では12月12日に根雪となった。この他にはシベリアカラマツで種子の落下開始が比較的早かった。同樹種ではその後の種子の落下は少しずつ進行したため、種子の落下期間は数カ月間に及んだ。その他の樹種では、降雪後に徐々に種子が落下した。他樹種の種子落下パターンをみると、11月から12月にかけて種子の落下が顕著なのはグイマツ樺太系 (V-298, V-300, V-551)、およびアメリカカラマツ (La-2) だった。12月から1月にかけて顕著なのは、グイマツ樺太系 (V-552)、およびカラマツ (IFL)、1月から2月にかけて顕著なのは、アメリカカラマツ (G-1524, La-1)、ホクシカラマツ (Gp)、チョウセンカラマツ (V-78)、およびカラマツ (G-1131) だった。種子落下時期の遅いものには、ヨーロッパカラマツとカラマツがあり、前者では2月下旬になっても種子落下率が5%に達しなかった。

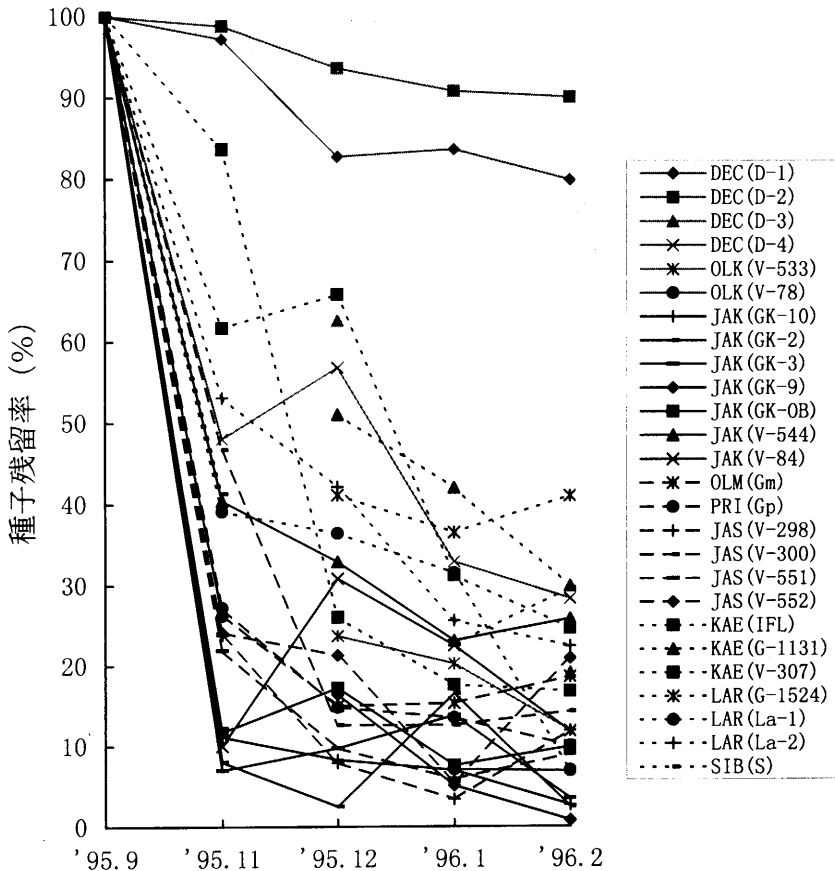


図-11 カラマツ属樹種の各個体の球果 10 個について得られた種子残留率の平均値の経時変化

Fig. 11. The temporal change of the average ratio of seeds left in cones after drying indoors for several days to total number of seeds in each *Larix* individual. Ten cones were used in each *Larix* individual.

球果を自然乾燥させると、ほとんどの個体の球果において種子の遊離が認められた。しかし、遊離する種子の割合は球果や個体によって顕著に異なった。球果に残留した種子は、乾燥しても落下しないことから、球果を採取した時期には、強風と低湿度などの落下に適した条件が整っても落下しないと考えられる。このような落下準備の整っていないといえる種子が、1球果中の種子全体でどれだけあるのか、またその球果内に占める割合は時間経過とともにどのように変化するかをみるために、各個体ごとに10個の球果における種子残留率の平均値を算出し、その経時変化を図-11に示した。ヨーロッパカラマツ(D-1, D-2)の種子残留率は、11月では100%に近く、12月以降では、若干の低下がみられたものの常に80%以上だった。他樹種では、時間経過とともに種子残留率が低下した。特に、カラマツ(V-307)の種子残留率は12月から2月にかけて顕著に低下した。2月では、数多くの個体で種子残留率が20%以下に低下したが、カラマツやアメリカカラマツ(G-1524)では30~40%と比較的高い値を示した。

種子落下率と種子残留率とを比較するために、両者の関係を11月から2月まで月別に示した

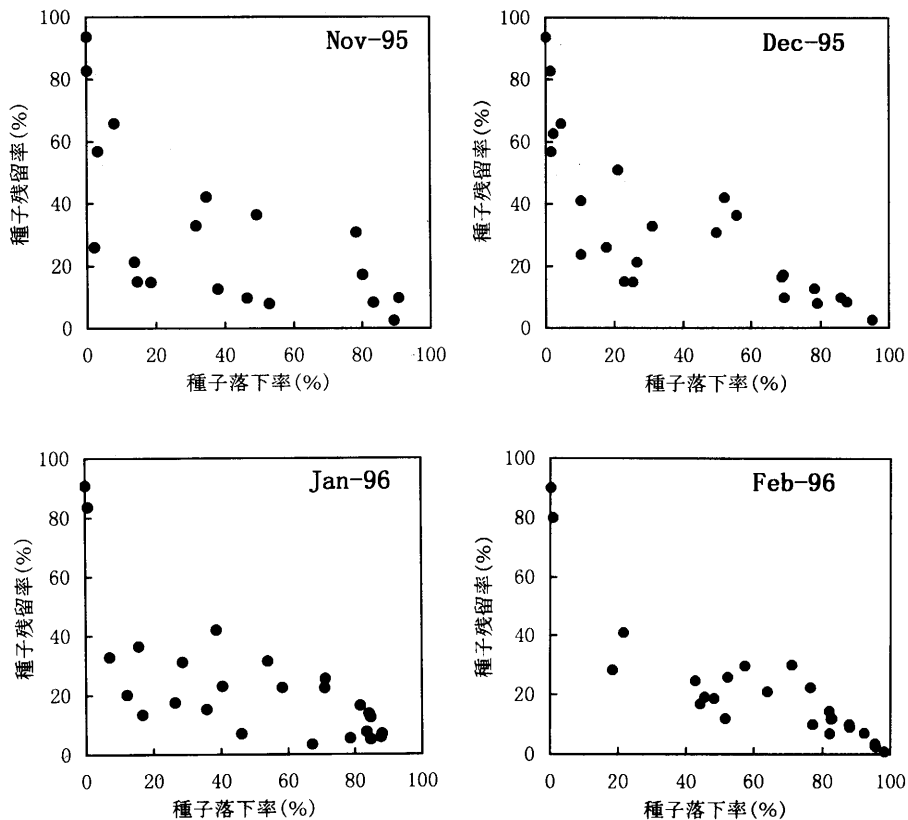


図-12 カラマツ属樹種における種子落下率と種子残留率との関係

Fig. 12. The relation between the ratio of seeds fallen from cones to total number of seeds and the ratio of seeds left in cones after drying indoors for several days to total number of seeds in each *Larix* individual.

(図-12)。時間の経過に伴って種子が落下した球果が多数を占める一方、種子の落下の増加がわずかだった球果もみられた。11月の時点では、種子残留率が20%未満を示した個体の種子落下率はいずれも約80%に達していた。種子落下率が0%近い個体の種子残留率をみると、100%近いものから50%近いものまであり、ばらつきが大きかった。12月では、種子落下率が10~30%の比較的低い値を示す個体に、種子残留率が10~30%の比較的低い値を示すものがあった。また、種子落下率が数%の低い値を示す個体でも、種子残留率が60%前後を示すものが見られた。これは、種鱗から離れた種子の数多くが、野外では何らかの原因で落下しなかったことを示す。1月では、各個体の種子落下率は様々な値を示したが、種子残留率は一部のヨーロッパカラマツを除いて40%以下に低下していた。このことは、乾燥すると遊離する種子の割合が高くなったものの、野外では落下に至らない種子が多かったことを示す。2月では、1月の場合と比較して種子残留率に大きな変化の認められない個体が多かったが、数多くの個体で種子落下率は高くなり、落下可能な種子の多数がこの期間に落下したことが示された。また、種子落下率が70%以上を示す個体では、球果を自然乾燥しても種子が遊離しない個体が数多く認められた。

2) 種子落下と秋季フェノロジーとの関係

カラマツ属樹種における種子の落下は、球果の乾燥に伴う種子の離脱によってもたらされる。したがって、種子の落下時期と、黄葉や落葉などの秋季フェノロジーの遅早との関連性が予想される。そこで、種子落下開始日と、各個体の黄葉日との関係を示した(図-13)。黄葉日よりも前に種子の落下が開始していた個体は、全調査木の過半数に達した。また、黄葉の早い個体だからといって種子落下の開始が早いとは限らなかった。逆に、黄葉の遅い個体でも、種子落下開始が早いものは少なかった。なお、種子落下開始日と落葉日との間にも同様の傾向が認められた。

黄葉日の遅早が、種子の落下時期に影響しているのかについて、黄葉日と11月~2月の種子落下率との関係を図-14に示した。11月では、黄葉日が10月だった個体に種子落下率が20%に満たないものがいくつかある一方で、黄葉日が10月下旬から11月上旬にかけての個体に種子落下率が80%近くあるいはそれ以上を示すものが複数認められた。この傾向は12月と1月においても同様に認められた。2月になると、黄葉日が10月だった全個体の種子落下率は40%以上を示した。

フェノロジーと種子落下率ならびに種子残留率との相関を表に示した(表-8)。いずれの月においても黄葉日と種子落下率との間には有意な相関が認められず、黄葉の遅早は種子落下の時期と無関係であることが示された。また、落葉日と種子落下率との間にも、有意な相関は認められなかった。

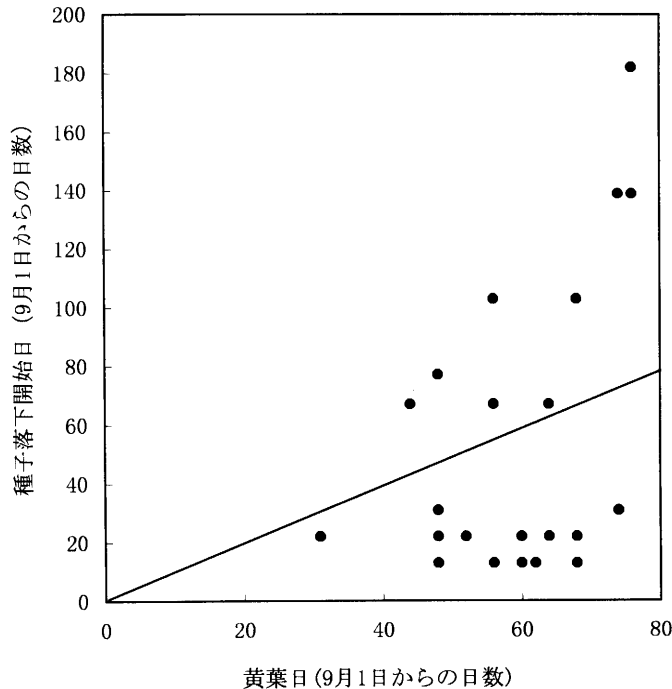


図-13 カラマツ属樹種における球果から種子落下が初めて確認された日(種子落下開始日)と黄葉日との関係

Fig. 13. The relation between the date of first seeds fall and the date over 80% of whole needles had turned yellow in each *Larix* individual.

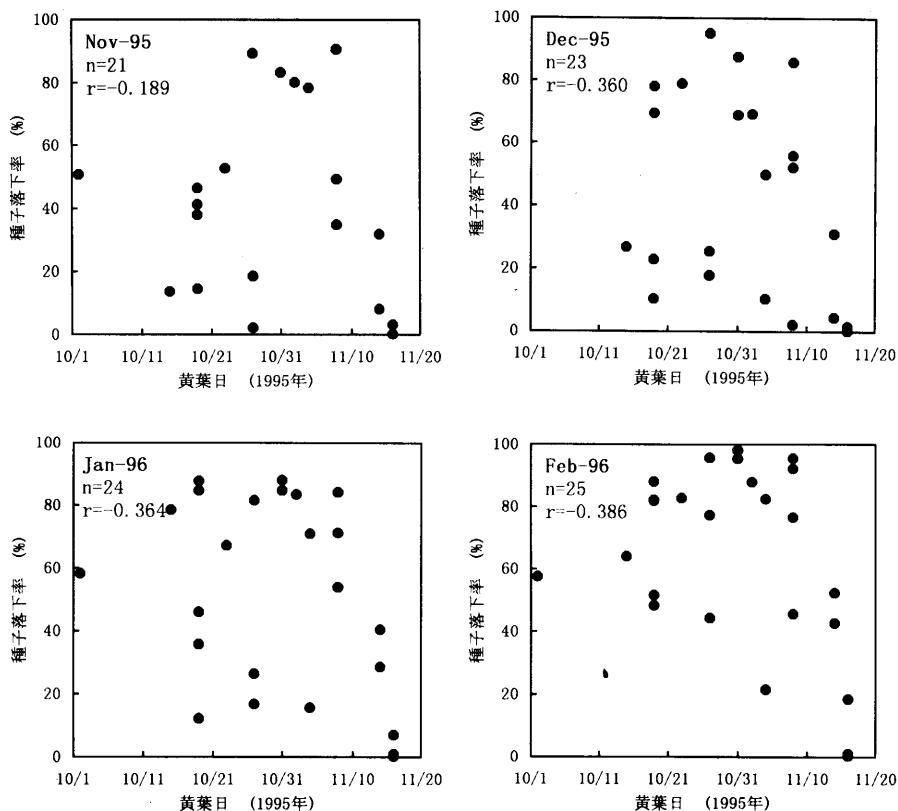


図-14 カラマツ属樹種における黄葉日と種子落下率との関係

Fig. 14. The relation between the date over 80% of whole needles had turned yellow and the ratio of seeds fallen from cones to total number of seeds in each *Larix* individual.

表-8 カラマツ属樹種における種子落下率および種子残留率とフェノロジーとの相関

Table 8. Correlation between the ratio of seeds fallen from cones to total seeds and of seeds left in cones to total seeds and the date of needle coloring and defoliation in *Larix* species

項 目	球果の採集を行った月			
	1995年		1996年	
	11月	12月	1月	2月
	21	23	24	25
種子落下率と黄葉日	-0.189	-0.360	-0.364	-0.386
種子落下率と落葉日	0.035	-0.134	-0.173	-0.230
種子残留率と黄葉日	0.396	0.744**	0.583**	0.411*
種子残留率と落葉日	0.267	0.582**	0.496*	0.304

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

黄葉日と種子残留率との関係についてみると(図-15, 表-8), 11月では, 両者間に顕著な傾向は認められなかった。一方, 12月では, 10月に黄葉した全個体の種子残留率は30%以下を示し, 11月に黄葉した個体では黄葉が遅いものほど高い種子残留率を示した。1月および2月で

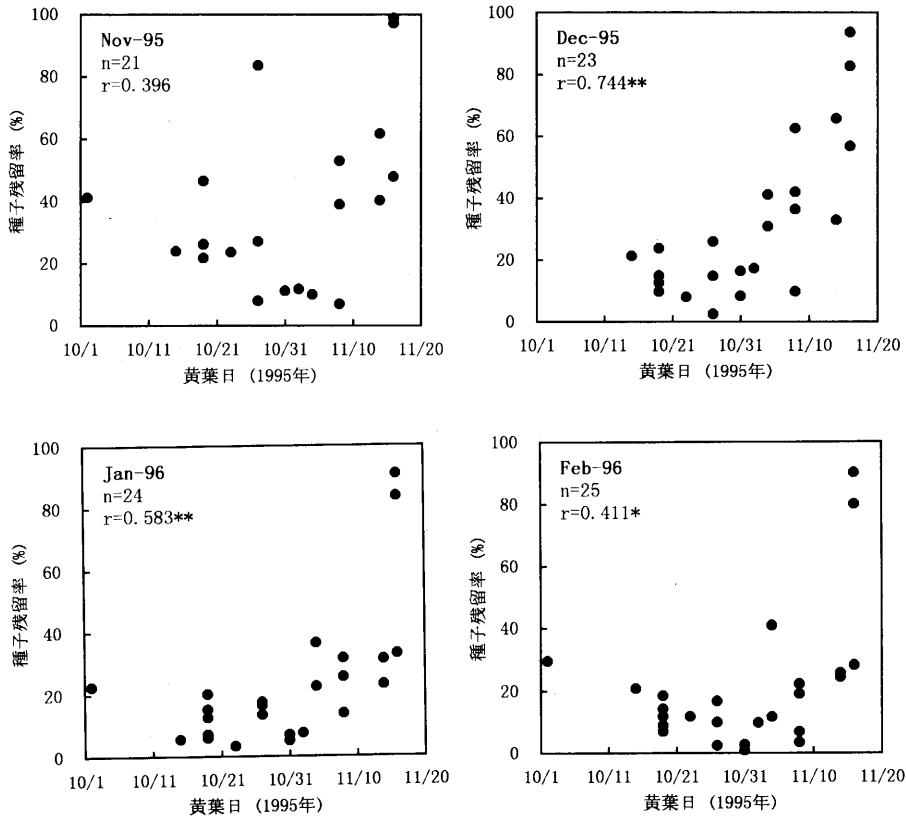


図-15 カラマツ属樹種における黄葉日と種子残留率との関係

Fig. 15. The relation between the date over 80% of whole needles had turned yellow and the ratio of seeds left in cones to total number of seeds in each *Larix* individual.

は、黄葉日が最も遅かった一部の個体を除く全個体の種子残留率が40%以下を示した。

種子の落下は球果の乾燥が契機となるため、種子残留率は球果の成熟および乾燥との関連性が高いものと考えられる。落葉日と種子残留率との関係を11月から翌年2月にかけて比較した(図-16, 表-8)。11月では、落葉日と種子残留率の間には明確な関係は認められなかった。落葉日が11月以降だった個体には、種子残留率が約10%のものから100%近いものまで認められた。12月では、落葉日が11月上旬以前だった個体のほとんどで種子残留率が20%以下を示した。落葉日が11月上旬よりも遅かった個体の種子残留率は、個体間差が大きかった。基本的に、落葉日が遅い個体ほど種子残留率が高い傾向があった。この傾向は1月と2月においても同様に見られ、落葉日が11月上旬以前だった個体では、落下可能な種子は12月までに種鱗から離脱することが示された。一方、落葉日が11月中旬以降だった個体では、2月の時点で種子の落下準備ができていないものとそうでないものがありさまざまだった。

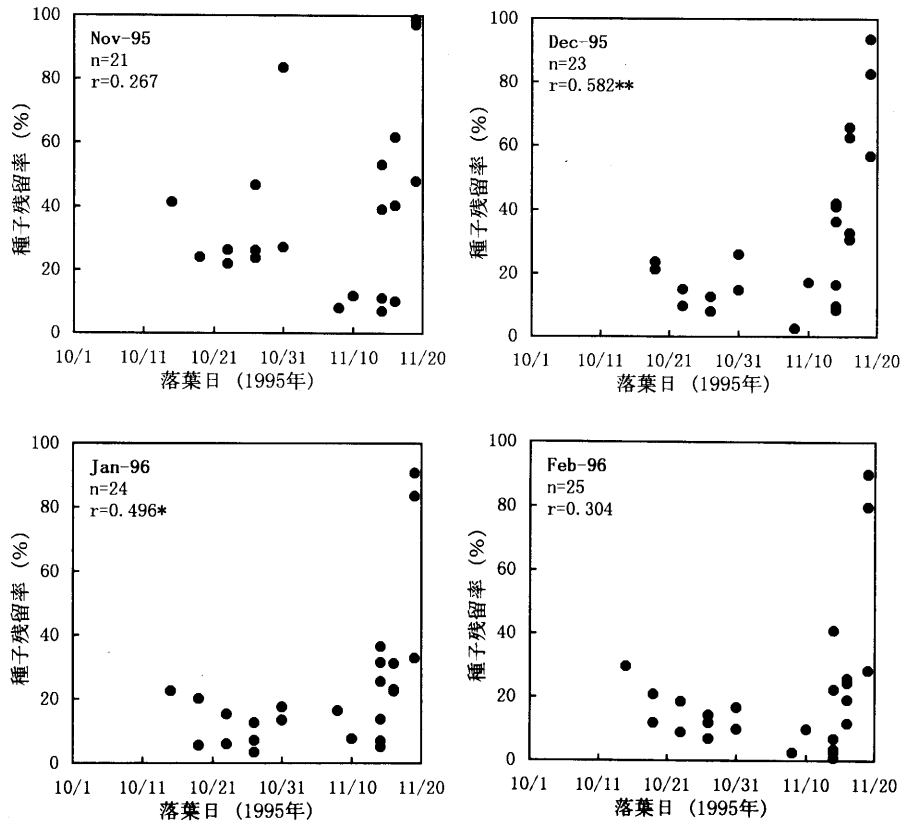


図-16 カラマツ属樹種における落葉日と種子残留率との関係

Fig. 16. The relation between the date over 80% of whole needles had defoliated and the ratio of seeds left in cones to total number of seeds in each *Larix* individual.

考 察

1) カラマツ属樹種の種子落下パターン

マツ属樹種の球果内には大きさと重さにおいてさまざまな種子が含まれており、この種子サイズの不均一性によって散布能力に広がりをもたらされる (BENKMAN, 1995)。球果植物における球果の形態は、1個の球果に含まれる種子量の制限要因となる (MCGINLEY *et al.*, 1990)。球果植物において、球果の着生形態は種子の落下に関与する。球果の着生形態をマツ科樹木についてみると、カラマツ属、ヒマラヤスギ属、アブラスギ属 (*Keteleeria*) およびモミ属では、球果が上向きに着生する (FARJON, 1990)。このうち、ヒマラヤスギ属およびモミ属の球果では、成熟すると種鱗と果軸とが分離し、種鱗と種子が落下する (FARJON, 1990)。一方、カラマツ属やアブラスギ属の球果では種鱗と果軸とが分離せず、球果が枝に着生したままの状態では種子が落下する (FARJON, 1990)。このため同属樹種における種子の落下は、乾燥して球果が開くだけでは困難であり、さらに風や落枝・落雪などの物理的的刺激が球果に加わる必要がある。

上向きに着生する球果では、種鱗の開出角度が、種子の落下の容易さに影響すると考えられる。今回の調査個体の球果を、種鱗の開出角度に応じて区分すると、60~90°はグイマツ千島系、

表-9 乾燥した成熟球果における種鱗の開出角度によるカラマツ属の区分

Table 9. Classification of *Larix* species on the basis of the seed scale angle to the axis of dried mature cone

種鱗開出角度	樹種
60-90°:	グイマツ千島系
45-60°:	カラマツ, アメリカカラマツ, グイマツ樺太系, チョウセンカラマツ, マンシュウカラマツ, ホクシカラマツ
30-45°:	シベリアカラマツ, ヨーロッパカラマツ

45~60°はカラマツ, アメリカカラマツ, グイマツ樺太系, ホクシカラマツ, チョウセンカラマツおよびマンシュウカラマツ, 30~45°はシベリアカラマツとヨーロッパカラマツとなった(表-9)。カラマツ属樹種の種子落下パターンには, グイマツ千島系のように短期間で種子の落下が終了する樹種がある一方, シベリアカラマツやヨーロッパカラマツのように長期間に及ぶものが認められた。これら3樹種について種鱗の開出角度をみると, グイマツ千島系では種鱗が大きく開出しており, シベリアカラマツとヨーロッパカラマツでは開出が小さかった。シベリアカラマツやヨーロッパカラマツでは, 種子が落下する際に種鱗が障害になり, 種子落下の遅延を引き起こしているものと考えられる。さらに, ヨーロッパカラマツの球果には樹脂が多量に含まれ, 球果から種子を取り出すのが容易ではない(Philippe, 1995)。樹脂は種鱗の開出を抑制し, 種子が種鱗から分離することも抑制すると考えられる。

種鱗の開出角度は, 同じ樹種であっても地域集団によってしばしば異なる(Dylis, 1961)。例えば, ロシア極東地域に広く分布するダフリアカラマツでは種鱗の開出角度は, 内陸部のは比較的閉じているが, 東部産のものは90°以上に開く。このように種鱗の開出角度が顕著に異なるため, 東部産のものは独立種*L. cajanderi*とされることもある(Dylis, 1961)。両地域におけるダフリアカラマツには, 形態の差違のみならず, 種子落下に時期的な違いがあることが, 種子落下と種鱗の開出角度との関係から類推される。中央シベリア北部における同樹種の種子落下は, 開花翌春から翌夏の期間だけにみられる。また, 同地域における同樹種の球果では, 5~15%の種子が3~4年間落下せずに残る(Abaimov, 1995)。一方, 東部産(*L. cajanderi*)では, 球果の成熟後約1週間のうちにほとんどの種子が落下する(Abaimov, 1995)。このように, 球果の種鱗の開出角度における変異が, 種子の落下時期に差違をもたらすことが考えられる。本研究において, グイマツ千島系は種鱗の開出角度が大きく, 種子落下が球果の成熟後すぐに終了した。この点で, 同樹種は東部産のダフリアカラマツに類似する。グイマツ千島系はクリル諸島のなかで択捉島と色丹島だけに分布するが, カムチャッカ半島からダフリアカラマツ東部集団の系統が南下したものである可能性がある。この検証には, グイマツとカムチャッカ半島に分布するダフリアカラマツとの類縁関係を調査する必要がある。

アラスカのBonanza Creek試験林(北緯64度42分, 東経148度19分)におけるアメリカカラマツの種子落下時期をみると, 9月上旬に落下が始まり, 9月の種子落下量が最も多く, 11月までに種子の95%が落下した(Brown *et al.*, 1988)。また, ミネソタ州Itasca州立公園での同樹種の種子落下は受粉後約3カ月後の8月下旬から9月中旬にかけて始まり, 落下開始後20日間で総落下数の65%, 40日間で90%が落下し, 冬に落下したのはわずか2.5%だった(Duncan, 1954)。本研究における同樹種の種子落下をみると, 落下開始時期は比較的早かったも

の、その後の種子落下率の低下は遅々としていた。同樹種の球果における種鱗の開出角度の地理的変異については明らかにされていない。材料に用いた同樹種の球果をみると、種鱗の開出角度は中間タイプを示しており（表-9）、開出角度の大きいグイマツのように短期間では種子の落下が終了しないものと考えられる。

上記以外の樹種のほとんどでは、12月から1月にかけて種子の大部分が落下した。なかには2月でも、種子落下率が30%以下のものがあり、種鱗の開出角度の小ささが原因であると考えられる。

以上のように、カラマツ属の種子落下パターンは樹種によって大きく異なる。種子落下の難易には、乾燥に伴う種鱗からの種子の分離や種鱗開出角度などの形態的な要因と、球果の乾燥のしやすさや樹脂含量などの生理的な要因の影響が大きいものと考えられる。

2) フェノロジーと種子落下時期の関係

いずれの調査月においても、種子落下率は、球果の乾燥だけでなく種鱗の開出角度などの影響を受けるため、黄葉および落葉の遅早とは関連がなかった。一方、種子残留率では、12月以降から秋季フェノロジーとの関連性が認められた。種子残留率の低さは、数多くの種子がすでに種鱗から離脱していることを示す。このため、種鱗からの種子の離脱過程は、黄葉や落葉に至る過程と関係しているものと推測される。

長野におけるカラマツの種子落下は10月中旬から下旬であり（金子, 1976）、これは長野周辺の中部山岳地域における初冠雪の時期に一致する。東大北演では、カラマツの自生地よりも北方に位置し、日長がながいため、カラマツは比較的遅い時期まで成長が持続する。このことが原因なのかは不明であるが、種子落下は自生地よりも遅かった。このように、自生地よりも遅くまで成長が続いたヨーロッパカラマツ、カラマツやアメリカカラマツなどの樹種では、黄葉および落葉が遅くなるため種子の落下時期もまた自生地よりも遅くなったと考えられる。

3) 種子落下パターンに樹種間差があることの意義

カラマツ属樹種の種子落下時期には、樹種ごとに顕著な差違が認められた。同属樹種の種子の発芽時期には遺伝的変異が認められるが、低温湿層処理を施すことで発芽時期が集中的に早くなる（小沢, 1962）。したがって、積雪期間に種子が落下することは、春の早い時期に発芽するのが有利な立地では重要である。同属樹種は北半球の非常に広い範囲に分布することから、分布地における積雪期間はさまざまであろう。一方、同属樹種の成長には十分な光が必要であり、主に裸地において更新するため、発芽が早すぎると霜害を受けることが懸念される。このため、発芽時期に種子間で変異があることは、霜害による実生の全滅を回避することにつながると考えられる。開花翌春以降に落下した種子は、必ずしも低温湿層処理を受けていないため、さまざまな時期に発芽すると考えられる。また、落葉広葉樹が混交する森林では、落葉期間に落下した種子は障害が少ないために、着葉期間の場合よりも遠くまで散布される（STEWART *et al.*, 1998）。このことは、冬期間に種子が落下することの利点になると考えられる。

カラマツ属の球果が成熟して種子が落下するまでには、さまざまな生物的要因が加わって種子が減少する。アメリカカラマツの成熟前の球果を加害するものには、アブラムシや少なくとも2種類の双翅目幼虫が見つかっており、後者が種子の減少に与える影響は極めて大きい（DUNCAN, 1954）。また、同樹種の球果はアカリスやアメリカアカリスによる食害でも減少する（DUNCAN, 1954）。さらに、ネズミを金網で除外した試験区での実生数が、非処理区における実生数の4倍に

達したことから、落下後の種子はネズミによって大量に消費されると考えられる (DUNCAN, 1954)。北海道に植栽されたヨーロッパカラマツではほとんどの種子が積雪期間中には落下せず、翌春の雪解け後も球果中に残ったままだった。このため、11月以降、ムクドリなどの鳥が種子あるいは球果中の昆虫を補食する様子が観察され、その際に種子の落下が確認された。この他にエゾリスやモモンガなどの小型ほ乳動物が同樹種の球果を食べる姿が観察された。このように、同樹種の種子落下には、昆虫や動物の補食活動による間接的な寄与もあるのではないかと考えられる。種子の落下が長期間に及ぶほど、鳥や小動物などによる食害を受ける機会が増すことが予想される。

風散布種子でも動物によって二次散布されることがある。マツ属の1種 (*Pinus jeffreyi* GREV. et BAF.) の種子は、風散布された後、ネズミの貯食行動によって二次散布されることがある (VANDER WALL, 1992)。同樹種の種子はネズミによって土中埋蔵され、更新に寄与する (VANDER WALL, 1992)。このような動物の貯食活動は、カラマツ属樹種の種子についても考えられ、その実態の解明は今後の課題である。

ヨーロッパカラマツが自生するアルプスでは、種子は9~10月に成熟する (古田, 私信)。同樹種の球果では、種鱗開出角度の小ささに加え、樹脂量が多く、種子の落下は困難であるものと考えられる。このため、同樹種では自生地においても種子の落下は数ヶ月の長期間に及ぶことが予測される。同樹種の種子落下が長期間に及ぶことは、自生地における降雪期間などの気候要因との関連性が予想され、さらに、自生地における山火事の頻度と関連する可能性がある。北アメリカ大陸北部において山火事は珍しい出来事ではなく、山火事の規模や頻度に適応した *Picea mariana* (VIRECK, 1973) や *Pinus banksiana*, *P. contorta*, *P. radiata*, *P. virginiana* (BARNES *et al.*, 1998) などの樹種が優占する。これらの種子は山火事後に開いた球果から落下する。また、今回の調査対象には含まれないが、北アメリカ大陸西海岸の山岳地帯に分布するセイブカラマツの更新は山火事に依存するとされる (ARNO and FISCHER, 1995)。さらに、中国東北部の大興安嶺では、山火事跡においてダフリアカラマツが良好に更新することが知られる (石ら, 1996)。このため、球果の開きにくいカラマツ属樹種の種子落下パターンについては、火事による更新との関連性を検討する必要がある。

種子の落下時期は、分布地における環境に適応して形成される。アラスカにおけるヤナギの例をみると、16樹種では、短命な非休眠種子が生育期間中に散布され当年発芽するが、ツンドラの8樹種は、休眠種子が生育期間終りに散布され、翌春発芽する。後者は、低温気候における短い生育期間に適応した結果、前者から進化したものと考えられる (DENSMORE and ZASADA, 1983)。このように、種子の成熟期と散布時期は、生育期間の短い環境では生態的にも進化的にも意義がある。カラマツ属では、種子の全てが成熟翌年以降の発芽となる。同属樹種の種子落下は、グイマツが短期間で、シベリアカラマツやヨーロッパカラマツでは長期間に及んだ。これらの種子の落下時期における樹種間差は、生物的・非生物的な環境によって形成された可能性がある。

冬季に種子が落下することは、散布距離を伸ばすことにつながる可能性がある。カンパの1種 (*Betula alleghaniensis*) では、冬に散布された種子が凍結した雪上で吹雪かれることで二次散布される (GREENE and JOHNSON, 1997)。この二次散布では長距離散布が可能となるため、単木状に生育する母樹にとっては、冬季の吹雪は種子の分散の上で重要な役割を担っている (GREENE and JOHNSON, 1997)。カラマツ属が広範囲に分布するシベリアや北アメリカ大陸北部では、冬季は低

温で降水量が少ないため、地表から地中にかけて凍結する。このような立地では、種子は短期間に集中して落下するよりも、徐々に落下した方が偏西風によってより遠くまで散布される確率が高くなる。このように、冬期間の地表環境の違いも種子落下時期の多様さをもたらした要因の一つであろう。

カラマツ属が現在広い範囲に分布するのは、最終氷期以降の植生の空白地帯において、急速な分布拡大に成功したことが原因の一つであると考えられる。同属樹種の種子落下パターンにおける多様性は、各樹種がそれぞれの分布を急速に拡大するのにつながったのであろう。さまざまな種子落下パターンは、各樹種の自生地における降雪期間や動物相の季節性など環境の影響を受ける過程で形成されたものと考えられる。

3章 分子情報に基づくカラマツ属樹種の系統

カラマツ属は、分類に用いられる球果形態に種内変異が著しくみられることがあるため、これを用いた種間関係の検討には問題が多い(FARJON, 1990)。形態に基づく系統の推定に問題点が残るなか、近年発掘された化石情報に基づいて同属の起源と分布拡大過程に関する新説が提唱された(LEPAGE and BASINGER, 1991, 1995; SCHORN, 1994)。しかし、化石記録では出土した植物遺体については生育していた年代を推定できるが、出土しないものについては推定することすらできない欠点がある。

前章では、カラマツ属各樹種のフェノロジー特性を解明したが、その特性が系統を反映しているかは不明である。また、カラマツとグイマツにおける1年生枝の形態(木佐貫ら, 1994)やフェノロジー特性(倉橋, 1988)の遺伝様式についてみると、雑種は両親種の間形質を示すものがほとんどだった。したがって、近縁樹種間の系統を、形態的特徴やフェノロジーなどの生態学的特性に基づいて推定するのは困難であると考えられる。

DNA分析技術の発達に伴い、生物の系統関係の解析を遺伝子レベルで行うことが可能になった(PALMER *et al.*, 1988)。DNAを解析して得られた情報を用いて分類の大きな再編が行われるなど(NYFFELER, 1999)、DNA情報が植物分類に与える知見は著しい。

一方、DNA分析の内容は多岐にわたり、対象によって用いるべきDNAや手法が異なる。植物の体細胞には、核DNA(nrDNA)、ミトコンドリアDNA(mtDNA)、リボゾームRNA、および葉緑体DNA(cpDNA)の4種類のDNAが含まれる。それぞれのDNAについてみると、nrDNAには非常に数多くの遺伝情報が含まれる反面、分子が大きく複雑すぎるため扱いにくい。高等植物のmtDNAでは、その分子内・分子間での組み替えを伴う再編成が比較的頻繁に行われている。このため、mtDNAのRFLPでは種内レベルの群においても比較的多型が多いものと考えられ(STRAUSS *et al.*, 1993)、種間レベルでの関係を推定するためには不適である。東北地方の三つの山塊でハイマツとキタゴヨウのmtDNAが分析された結果、キタゴヨウのmtDNAのほとんどはハイマツ型を示したことから、ハイマツからキタゴヨウへの大規模な浸透交雑が明らかになった(SENJO *et al.*, 1999)。このように、近縁種間や同種内の地理的変異の検出(TOMARU *et al.*, 1998; TSUMURA and SUYAMA, 1998)には、mtDNAを用いることが効果的な場合もある。リボゾームRNAは塩基置換率が非常に低いため、綱や門レベルなど高次分類群間の比較にしか使えない。これらのDNAは、種間関係や属間関係の推定に適していない(清水, 1991)。一方、cpDNAは環状構造のためnrDNAやmtDNAよりも構造が安定しており、分子の大きさは約

150 kbp で扱いやすい (PALMER, 1987)。葉緑体ゲノムはいずれの植物種にも共通して 1.1×10^{-9} 置換/サイト/年程度の保守的な塩基置換率で進化し、ほとんどの植物で類似した構造をしている (CURTIS and CLEGG, 1984)。cpDNA には光合成に関与する遺伝子群が含まれ、その塩基配列が変化した個体は光合成機能に異変が生じ、自然条件下では他個体との競争の過程で淘汰されると考えられる。一方、腐生植物などの光合成を行わない植物の cpDNA では塩基置換が頻繁に生じている (PALMER, 1987)。光合成を行う植物では、塩基置換が蓄積されにくい機構が cpDNA 上に働いているものと考えられる。このため、cpDNA が植物の種間関係および属間関係の検討に適する場合が多い。

この章では、カラマツ属樹種の cpDNA の制限酵素断片長多型を分析し (1 節)、次に cpDNA のなかで比較的保守的な遺伝子である *rbcL* 遺伝子の塩基配列を解読し (2 節)、さらに、RAPD 法を用いて全 DNA を対象とした解析 (3 節) を行うことで、同属樹種の種間関係および系統を解明した。

1 節 葉緑体 DNA の制限酵素断片長多型に基づくカラマツ属の DNA 分類

植物の属間関係や種間関係の推定には、cpDNA を用いるのが適している場合が多い。植物の種間関係に関する研究では、cpDNA を制限酵素によって切断した断片の長さを比較する制限酵素断片長多型 (RFLP) が古くから適用されてきた (LEVINGS and PRING, 1976; VEDEL *et al.*, 1976; ATCHISON *et al.*, 1976; PALMER, 1987; TSUMURA *et al.*, 1995)。

cpDNA の RFLP には科や属によって、種内変異が認められる植物群がある一方、属内変異ですら非常に軽微な植物群がある (清水, 1991)。例えば、ユキノシタ科植物 *Tolmiea menziesii* の 2 倍体集団には、cpDNA の RFLP には多型が存在する (SOLTIS *et al.*, 1989)。マツ属には cpDNA の RFLP に種内変異を示す樹種がある (GOVINDARAJU *et al.*, 1989)。一方、イネ科の植物 *Pennisetum americanum* (CLEGG *et al.*, 1984) やナス科の植物 *Lycopersicon peruvianum* (PALMER and ZAMIR, 1982) などでは、cpDNA の RFLP に種内多型が認められない。

一般に、木本植物の cpDNA は、RFLP の多型が比較的軽微である (清水, 1991)。針葉樹ではセコイア (*Sequoia sempervirens* D. DON ENDL.), ダグラスファー, *Calocedrus*, テーダマツ (*Pinus taeda* L.) などの樹種 (ALI *et al.*, 1991) や針葉樹の属全般 (TSUMURA *et al.*, 1995) について cpDNA の RFLP が調べられ、属間の類似度や系統関係が検討された。カラマツ属では、cpDNA の体細胞遺伝を解明するためにヨーロッパカラマツとカラマツとの雑種を対象に cpDNA の RFLP が調べられ (SZMIDT *et al.*, 1987), cpDNA は父性遺伝することが明らかになった。

今回、カラマツ属の cpDNA の制限サイト多型 (NEI, 1987) の探索を行い、同属の種間関係を解明した。

材料と方法

カラマツ属の系統を解明するために、8 樹種 14 系統を材料に用いた (表-10)。これらのほとんどは、東大北濱の山部樹木園および見本林に植栽されているもので、遺伝子資源として登録されている。中国南部に分布するシセンカラマツと、中国南部からヒマラヤ山脈にかけて分布するヒマラヤカラマツは今回の材料に含まれていない。独立種とされることもある *L. sukaczewii* なら

表-10 DNA 分析に供したカラマツ属樹種
Table 10. Plant materials used for DNA analysis

樹 種	略号	産 地	Source	ID*	MN**
<i>Larix</i> Mill.					
Section <i>Larix</i>					
ヨーロッパカラマツ	DEC	Plantation	Denmark	S-602	10
ポーランドカラマツ	POL	Blizyn, Poland	TUFH***	S-2128	11
シベリアカラマツ	SIB	Krasnoyarsk, Russia	TUFH	S-316	9
ダフリアカラマツ	GME	Ust' Niman, Russia		S. WATANABE	7
グイマツ千島系	JAK	Kuril, Russia	TUFH	V-466	4
グイマツ樺太系	JAS	Sakhalin, Russia	TUFH	V-300	3
チョウセンカラマツ	OLK	Korea	TUFH	V-78	5
マンシュウカラマツ	OLM	China	TUFH	S-895	6
ホクシカラマツ	PRI	China	TUFH	S-1292	2
カラマツ	KAE	Nagano, Japan	TUFH	S-278	1
アメリカカラマツ	LAR	Nova Scotia, Canada	TUFH	S-599	13
Section <i>Multiserialis</i>					
トウカラマツ	POT	Plantation	England	G-1563	8
タカネカラマツ	LYA	Oregon, USA		S. KAWANO	14
セイブカラマツ	OCC	Montana, USA	TUFH	S-600	12

*: The code of plant genetic resources in the University Forest in Hokkaido, University of Tokyo, or the collector's name.

** : Material number used in Figure 17 and Table 13.

***: University Forest in Hokkaido, University of Tokyo.

びに *L. cajanderi* は、それぞれシベリアカラマツならびにダフリアカラマツと同種であるとみなし、材料に含めなかった。ダフリアカラマツの変種を除き、一分類群につき一個体を材料とした。ダフリアカラマツの変種のうち、マンシュウカラマツとチョウセンカラマツはともに同種とされるが、両者を材料に含めた。また、グイマツについても、樺太系と千島系の両者を材料とした。

1993年6月上旬、東大北演において虫害などの影響が極力少ない新鮮な葉を採取し、実験まで -80°C のフリーザーにて冷凍保存した。タカネカラマツは、京都大学理学部河野昭一元教授によって、1993年7月米国の自生地から採集された。ダフリアカラマツは、1996年6月ロシア東南部の自生地から東京大学農学部渡邊定元教授によって採集された。

DNA の抽出

DNA の抽出は CTAB 法 (SAGHAI-MAROOF *et al.*, 1984) を改変して行った。カラマツの針葉 1~2g を乳鉢のなかで液体窒素を用いて凍結して粉碎し、50 ml の抽出用緩衝液 (100 mM Tris-HCl, pH 9.0, 3% CTAB (Hexadecyl trimethylammonium bromide), 0.1% β -メルカプトエタノール, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA) を加え、常温で 10 分間振った。これに等量のクロロホルム/イソアミルアルコール混合液 (24:1) を加え、10 分間、ゆっくりと混和し、室温のもと 7,000 rpm で 20 分間遠心分離を行い、上澄みを回収した。得られた上澄み溶液に等量のイソプロパノールを加えた後、6,000 rpm で 15 分間遠心し、沈殿物以外を除去し、70% エタノールを加えて 14,000 rpm (4°C) で 5 分間遠心した。エタノール除去後、再度 70% エタノールを加えて同様に遠心した。沈殿物をデシケーターで乾燥させ、得られた DNA ペレットを TE 溶液 (pH 8.0) 0.05 ml に溶解させた。

さらに、DNA を塩化セシウム密度勾配により精製した。DNA に塩化セシウムと臭化エチジウムを加え、超遠心 (70,000 rpm, 20°C) を 15~20 時間行った。遠心後、臭化エチジウムによって赤く染色された DNA の部分を回収し、チューブに移した。臭化エチジウムを除去するために、飽和イソプロパノール液を加え、攪拌後遠心し、沈殿物を回収する作業を 3~4 回繰り返した。その後、得られたペレットに TE, 99% エタノールを加え、-20°C で一晩静置した。6,000 rpm (-10°C) で 20 分間遠心した後、上澄みを除去し、ペレットに 70% エタノールを加えて 14,000 rpm (4°C) で 5 分間遠心した。エタノールを除去し、20 分間風乾することでエタノールを完全に蒸発させ、さらにデシケーターで 15 分間乾燥させた。これに TE を加え、4°C で一晩インキュベートした。得られた DNA は、分光光度計を用いて定量し、濃度調整を行い実験に供した。

制限酵素による DNA の消化

各材料の DNA を 7 種類の 6 塩基認識制限酵素 (*Bam*H I, *Bgl* II, *Sca* I, *Dra* I, *Hind* III, *Xho* I, *Eco*R V) ならびに 4 種類の 4 塩基認識制限酵素 (*Hae* III, *Hinf* I, *Alu* I, *Msp* I) で切断させた。DNA 1 μ g に制限酵素、メルカプトエタノールを加え、37°C で 6 時間以上インキュベートさせた。その後、制限酵素の反応を停止させるために、EDTA を加えた。

電気泳動

制限酵素によって消化された DNA を、0.5×TBE に浸した濃度 1.2% のアガロースゲルにおいて電気泳動させた。泳動条件は 18 V で 16 時間とした。

サザンハイブリダイゼーション

サザンプロット法でアガロースゲル上の DNA 断片をナイロン膜 (Hybond-N, Amersham) に転写した。転写は吸引法によった。吸引の過程で、脱プリン液、変性液、中和液の順に溶液を変えた。転写終了後、ナイロン膜に紫外線を照射し DNA を固定させた。このナイロン膜にプローブと DIG ハイブリダイゼーション緩衝液を加え、42°C で 2 時間以上インキュベートさせることでカラマツ属の DNA をプローブと DNA 雑種形成 (ハイブリダイゼーション) させた。プローブにはヤマノイモ (*Dioscorea bulbifera* L.) の cpDNA の *Sal* I ならびに *Bam*H I による制限酵素断片を用いた (TERAUCHI *et al.*, 1989)。プローブの標識および検出は抗体 (AP-conjugate) と蛍光薬 (lumiphos) を用いて行った (DIG-Luminescent Detection Kit, Boehringer Mannheim Biochemica)。ナイロン膜は洗浄用緩衝液で 4~6 回繰り返して洗浄し、別のプローブとのハイブリダイゼーションに繰り返して用いた。蛍光標識されたナイロン膜を X 線フィルムに 6~8 時間感光させた。

なお、吸引法による転写で断片を検出できないもの、特に 4 塩基認識酵素で得られた DNA 断片を泳動したゲルについては、アルカリ性の溶液に浸し、浸透圧によって DNA をナイロン膜に転写させるアルカリ転写も試みた。

結果

カラマツ属の全 DNA を数種類の制限酵素で切断し、ヤマノイモの cpDNA 断片とハイブリダイゼーションさせた (表-11)。6 塩基認識制限酵素によって消化された DNA からはバンドが得られた (表-11)。得られた制限サイト数をプローブごとに示した (表-12)。S7 のプローブにおいて制限サイトが数多く認められた。また、制限サイト数は計 46 個で、これはのべ 276 bps の塩基数になる。これは、全塩基数が約 110 kbp であるカラマツ属 cpDNA (津村, 私信) の約 0.25%

表-11 カラマツ属樹種の葉緑体 DNA を分析するのに用いた制限酵素とプローブの組合せ

Table 11. Combinations of restriction enzymes and probes used for the cpDNA analysis of *Larix* species

制限酵素	認識塩基数	プローブ*							
		Sal I 断片				BamHI 断片			
		S2	S4	S6-5	S7	B	B5	B6	B8
<i>Alu</i> I	4		×		×		×		
<i>Hae</i> III	4	×					—	—	×
<i>Hinf</i> I	4	×		×	—		×	×	×
<i>Msp</i> I	4		×				×	×	×
<i>Bam</i> HI	6	—	—	—	—	—			
<i>Bgl</i> II	6	—	○	—	—	×			
<i>Dra</i> I	6	○	○	○	○	○			
<i>Eco</i> R V	6	—	—	—	—	—		×	
<i>Hind</i> III	6			—	—				
<i>Sca</i> I	6	—	○	—	—				
<i>Xho</i> I	6	—	—	—	—		×		

* Probes are the cpDNA fragments of *Dioscorea bulbifera* digested with *Sal* I or *Bam*HI (TERAUCHI *et al.*, 1989).

○: polymorphic, —: monomorphic, ×: no band.

表-12 カラマツ属のゲノム DNA を数種類の制限酵素で切断し、プローブと DNA 雑種形成させて得られた制限サイト数

Table 12. The number of restriction site generated with some endonuclease-probe combinations

制限酵素	プローブ*				計
	S2	S4	S6-5	S7	
<i>Bam</i> HI	1	0	1	5	7
<i>Bgl</i> II	3	2	1	3	9
<i>Dra</i> I	4	3	1	2	10
<i>Eco</i> R V	0	0	1	2	3
<i>Hind</i> III	0	0	1	3	4
<i>Sca</i> I	1	2	1	1	5
<i>Xho</i> I	0	4	2	2	8
合 計	9	11	8	18	46

* Probes are the cpDNA fragments of *Dioscorea bulbifera* digested with *Sal* I (TERAUCHI *et al.*, 1989).

に相当する。一方、4塩基認識制限酵素によって消化された DNA からはバンドが検出されなかった (表-11)。4塩基認識制限酵素で消化された DNA からバンドが検出されなかった理由として、プローブとして用いたヤマノイモの cpDNA とカラマツの cpDNA との相補性の低さが考えられた。そこで、被子植物であるヤマノイモではなく、系統上カラマツ属により近いと考えられる裸子植物のスギ (*Cryptomeria japonica*) の cpDNA から *Sal* I によって作成されたプローブ (TSUMURA *et al.*, 1993) を用いて実験に供した。しかし、ヤマノイモのプローブの場合と同様に断

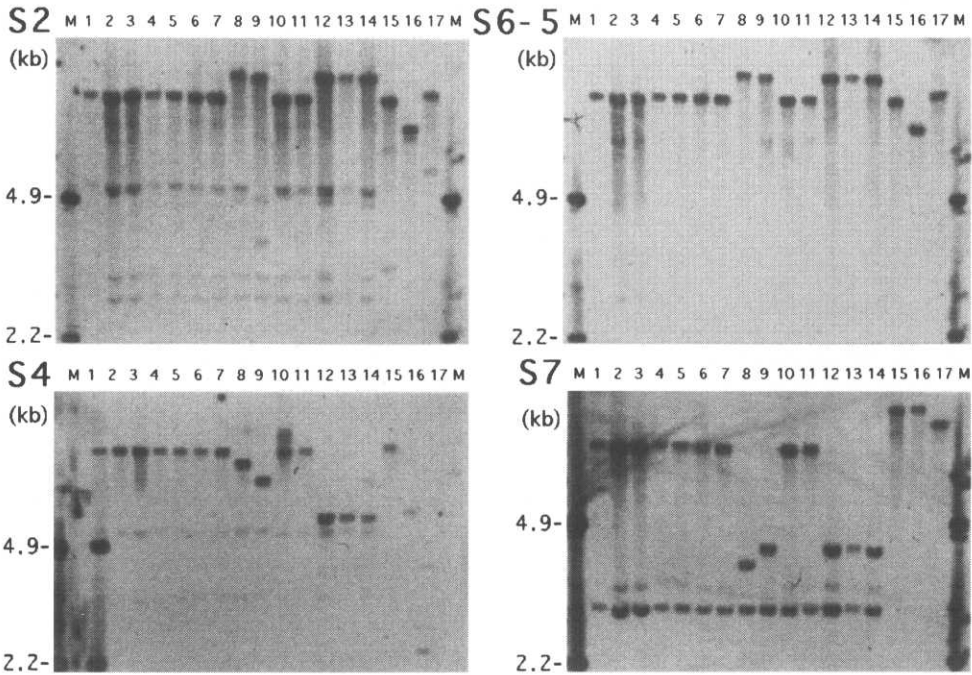


図-17 カラマツ属のゲノム DNA を制限酵素 *Dra* I で消化させ、ヤマノイモの cpDNA 断片と雑種形成させた泳動像

Fig. 17. DNA banding pattern of *Larix* species digested with *Dra* I and hybridized with cpDNA fragments of *Dioscorea bulbifera*.

M, Size marker; 1-14, *Larix* species; 15-17, Out group. S2, S6-5, S4, S7, Probe (cpDNA fragment of *Dioscorea bulbifera* after TERAUCHI *et al.*, 1989).

表-13 カラマツ属の cpDNA を *Dra* I によって消化させ、ヤマノイモの cpDNA 断片とサザンハイブリダイゼーションさせて得られた制限酵素断片長

Table 13. The size of *Dra* I digested fragments of *Larix* cpDNA as revealed by the Southern-hybridization of *Dioscorea bulbifera* cpDNA clones (S2, S4, S6-6, S7)

断片長 (kb)	cpDNA タイプ	樹	種*
18.5/17.0/11.0	I	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11	
23.0/11.0/ 4.2	II	9	
23.0/ 7.0/ 4.2	III	12, 13, 14	
23.0/15.0/ 3.8	IV	8	

* Same as in Table 10.

片を検出することができなかった。ただし、同一種類の制限酵素によって得られた制限サイト数は、ヤマノイモのプロープの場合よりも多かった。スギのプロープを用いた結果、合計 155 サイト、のべ 830 bps の塩基が認識された。これは、カラマツ属 cpDNA 全塩基の 0.75% に相当する。

6 塩基認識酵素で得られた断片についてみると、*Dra* I の場合を除くとほとんど多型は検出されなかった (表-11)。cpDNA の RFLP については、ヨーロッパカラマツとカラマツとの間で

	形態分類		地理分布	
	カラマツ節	ナガミカラマツ節		
cpDNAタイプ	I	ヨーロッパカラマツ ポーランドカラマツ ダフリアカラマツ グイマツ樺太系 グイマツ千島系 チョウセンカラマツ マンシュウカラマツ ホクシカラマツ カラマツ	ヨーロッパ中部 ポーランド ユーラシア北東部 サハリン クリル 朝鮮半島 中国東北部 中国東部 本州	
	II	シベリアカラマツ	シベリア西部	
	III	アメリカカラマツ	タカネカラマツ セイブカラマツ	北米北部 北米西部 北米西部
	IV		トウカラマツ	中国南部

図-18 カラマツ属の形態（縦）および cpDNA タイプ（横）に基づく分類

Fig. 18. Classification of *Larix* species according to their morphology (column) and cpDNA type (row).

*Bam*HI による断片で多型が報告されている (SZMIDT *et al.*, 1987) が、今回、それは確認されなかった (表-11, 表-12)。

カラマツ属樹種の全 DNA を *Dra*I によって消化し、ヤマノイモのプローブとサザンハイブリダイゼーションさせた泳動像を図-17 に示し、得られた断片長を表-13 に示した。この制限サイト多型から、同属はアジアおよびヨーロッパに分布する樹種 (カラマツ, ヨーロッパカラマツ, ポーランドカラマツ, ダフリアカラマツの変種), シベリア西部に分布する樹種 (シベリアカラマツ), 北アメリカ大陸に分布する樹種 (アメリカカラマツ, セイブカラマツ, タカネカラマツ), ならびに中国南部に分布する樹種 (トウカラマツ) の 4 つの群 (I~IV) に区分された (図-18)。この制限サイト多型による区分は、表現型に基づく同属の節と完全には一致しなかった。すなわち、北アメリカ大陸のカラマツ属はアメリカカラマツがカラマツ節に、セイブカラマツおよびタカネカラマツがナガミカラマツ節に分類されるが、これら 3 樹種は cpDNA の RFLP では区分されなかった。その他の樹種については、ほぼ形態分類に準じた結果を示した。

考 察

1) cpDNA の RFLP

cpDNA を用いた研究の初期において、農作物を中心に cpDNA の物理地図 (Physical map) が RFLP を用いて作成された。針葉樹では、スギ属 (Tsumura *et al.*, 1993), マツ属 (White, 1990a; Lidholm and Gustafsson, 1991; Kappinska and Kappinski, 1993) やトウヒ属 (White *et al.*, 1993) などで作成されている。さらに、クロマツ (*Pinus sieboldii*) では cpDNA の全塩基配列が解読され、全長は約 120 kbp であることが解明された (TsuDzuki *et al.*, 1992)。カラマツのそれは約 110 kbp とされ (津村, 私信), 比較的短い, カラマツ属樹種の cpDNA の物理地図は

まだ作成されていない。

cpDNA の物理地図作成によって、数多くの陸上植物に存在する逆位反復配列 IR (Inverted region) が、針葉樹の cpDNA に欠落することが判明した (LIDHOLM *et al.*, 1988; STRAUSS *et al.*, 1988)。シベリアカラマツの cpDNA にも IR が存在しない (LIDHOLM *et al.*, 1988)。IR の存在は cpDNA の構造を安定化させるといわれており (PALMER and THOMPSON, 1982), IR のない cpDNA では塩基置換や再編成などが比較的頻繁に行われることが予想される (STRAUSS *et al.*, 1988)。したがって、cpDNA に IR がない植物種では、cpDNA に種内レベルでの比較的多数の多型があるのではないかと考えられる。マツ属樹種では cpDNA の RFLP で種内多型があり (GOVINDARAJU *et al.*, 1988; WHITE, 1990b), アオモリトドマツ (*Abies mariesii*) では分布緯度に応じた cpDNA 多型が認められる (Tsumura *et al.*, 1994)。しかし、カラマツ属を対象とした RFLP 分析においては、種間多型ですらほとんど認められなかった。同属の cpDNA には種内変異の可能性は極めて低いことが予想されるため (QIAN *et al.*, 1995), 樹種あたりの供試材料が少なくても得られた多型をもとに種間関係を論ずることが可能であると考えられる。

2) cpDNA の RFLP によるカラマツ属の DNA 分類

11 種類の制限酵素を用いたなかで唯一多型を示した *Dra* I による制限サイト多型から、カラマツ属はアジアおよびヨーロッパ、シベリア、アメリカ、ならびに中国南部の 4 群に区分された。これは、QIAN *et al.* (1995) による cpDNA の RFLP の結果と若干異なった。彼らは、シベリアカラマツが他の北ユーラシアの樹種と大きく異なるとした。しかしこれは、シベリアカラマツとヨーロッパカラマツとが遺伝的に近縁であるとするアイソザイムの結果 (LEWANDOWSKI, 1997) と矛盾する。さらに、地理分布や球果形態からみても、シベリアカラマツがヨーロッパカラマツやダフリアカラマツと遺伝的にかなり隔たっているとは考えにくい。GERNANDTA and LISTON (1999) は、シベリアカラマツ、ヨーロッパカラマツ、ダフリアカラマツ、カラマツの ITS 領域塩基配列に基づく系統から、QIAN *et al.* (1995) が示したシベリアカラマツの位置は一貫性がないとした。彼らはその原因について、人工的なミスか、プラスチドの再編と分子雑種形成が生じ、それによって葉緑体キャプチャー (RIESEBERG and SOLTIS, 1991; LISTON and KADEREIT, 1995) につながった可能性があるとした。

cpDNA の RFLP に基づくカラマツ属の分類は、表現型に基づく節の分類と一致しないことが、QIAN *et al.* (1995) と本研究で共通している。すなわち、北アメリカ大陸に分布する 3 樹種は球果における種鱗と苞鱗の長さの関係から 2 節に分類されるが、それらの cpDNA の RFLP には差異が認められなかった。このように、球果形態が大きく異なり、節を異にする樹種同士でも、遺伝的に近縁である可能性が示された。このことにより、北アメリカ大陸の同属の祖先はユーラシアのカラマツ属樹種の祖先と分化した後、現在の 3 樹種に分化したものと推測される。また、中国南部に分布するトウカラマツが他のユーラシアの樹種と異なる cpDNA タイプを示したことは、分布地が両者間でかなり隔離していることが影響しているのではないかと考えられる。なお、QIAN *et al.* (1995) によるトウカラマツの位置づけは、北ユーラシアのクレードに属するものだった。これは、形態と分布の両者において説明できないものである。

2 節 葉緑体 DNA の *rbcL* 遺伝子塩基配列に基づくカラマツ属の系統

SANGER *et al.* (1977) による塩基配列決定法の開発以来、さまざまな生物種の DNA 塩基配列が

解読されつつある。例えばマツ科では、クロマツの葉緑体ゲノムの全塩基配列が解読された (TSUZUKI *et al.*, 1992)。一方、生物の系統関係を推定するためには、全塩基配列を解読する必要はない。ゲノム DNA の塩基配列は、塩基置換の生じやすさが部位によって異なるからである。

cpDNA の塩基配列が属や種レベルの系統関係の推定に用いられる理由は、それが比較的安定した配列をもつためである。cpDNA のなかでも *rbcL* 遺伝子は、ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase の大サブユニットをコードし、保存性が高い。*rbcL* 遺伝子は、塩基置換速度が非常に遅いので、属間レベルや種間レベルの関係を推定するのに有効である (BOUSQUET *et al.*, 1992b)。この遺伝子の塩基配列が数多くの植物種において解読され、系統関係の推定に用いられてきた (BOUSQUET *et al.*, 1992a; CHASE *et al.*, 1993; MARTIN *et al.*, 1993; MORGAN *et al.*, 1994; DUBUISSON, 1997)。そこで、カラマツ属の cpDNA の *rbcL* 遺伝子における塩基配列を解読し、同属の系統を解明した。

材料と方法

材料には前節と同じカラマツ属樹種 8 樹種 4 変種の全 DNA を用いた (表-10)。

rbcL 遺伝子の増幅

塩基配列の解読は白石・渡邊 (1995) に準じて行った。材料の全 DNA を鋳型とし、2 種類のプライマー (PrL1, PrL2) (表-14) を用いて PCR を行い、*rbcL* 遺伝子の一部 (1,309 bps) を増幅させた。PCR 反応溶液の組成は、0.1 ng/ μ l 鋳型 DNA, 50 mM Tris-HCl, pH 8.5, 5 mM MgCl₂, 0.1 mM EDTA, 0.5 μ g/ μ l BSA, 2% Ficoll, 4 mM Tartrazine, 0.5 mM 各 dNTP, 0.25 mM PrL1, 0.25 mM PrL2, 0.04 units/ μ l *Tth* DNA ポリメラーゼ (TOYOBO) である。反応処理はサーモサイクラー (Idaho Tech., 1605 型) を用い、最初に、94°C で 60 秒間の変性処理を行った後、94°C 10 秒 (変性), 55°C 20 秒 (アニーリング), 72°C 40 秒 (伸長) の 3 行程を 30 サイクル繰り返した。最後に、72°C 120 秒の伸長反応を行った。

DNA 塩基配列分析

塩基配列分析は新たな 3 対のプライマー (表-14 の Sa, Sb, Sc) を用いて、前述の PCR によって得られた増幅産物を鋳型として、nested PCR (JACKSON *et al.*, 1991) を行い、*rbcL* 遺伝子 (1,309 bps) を互いにオーバーラップする 3 領域に分けて鋳型 DNA を調整した (白石ら, 1996)。最後に、サンガー法 (SANGER *et al.*, 1977) により塩基配列を決定した。

表-14 本研究で用いたプライマーの塩基配列
Table 14. Primer sequences used in this study

プライマー組合せ	プライマー	塩 基 配 列
A	PrL1	5'-GTCCGATTCAAAGCTGGTGT-3'
	PrL2	5'-TCACAAGCAGCAGCTAGTTC-3'
Sa	SrLa1	5'-TGTA AAAACGACGGCCAGTGTCGGATTCAAAGCTGGTGT-3'
	SrLa2	5'-CAGGAAACAGCTATGACCTGATAGTACATCCCAATAAAGG-3'
Sb	SrLb1	5'-TGTA AAAACGACGGCCAGTATGGTATCCAAGTAGAAAAGAGA-3'
	SrLb2	5'-CAGGAAACAGCTATGACCAATGCTTTAGCCAGTACACG-3'
Sc	SrLc1	5'-TGTA AAAACGACGGCCAGTTTGACAGACAGAGGAATCATGG-3'
	SrLc2	5'-CAGGAAACAGCTATGACCTCTCAAGCAGCAGCTAGTTC-3'

All primers were designed by SHIRAIISHI and WATANABE (1995) and SHIRAIISHI *et al.* (1996).

得られた PCR 産物はアガロースゲルで電気泳動し、PCR 産物の分画のみをゲルから切り出し、ELU-QUIK™DNA 精製キット (Schleicher & Schuell 社) を用いて精製した後、自動蛍光シーケンサー (Applied Biosystems 社, 373 型) によって、*Taq* Dye Deoxy Terminator Cycle Sequencing キットと上述した 3 対のシーケンスプライマー (表-14 の Sa, Sb, Sc) を用いて 3 領域の両鎖ををれぞれダイレクトシーケンスした (白石ら, 1996)。

結 果

カラマツ属の系統関係を推定するために、カラマツ属 8 樹種 4 変種について、cpDNA の *rbcL* 遺伝子の塩基配列を決定した (表-15)。この塩基配列のなかで、塩基置換が認められた部位の塩基を表-16 に示した。解読を行った塩基配列 1,309 bps のなかで、すべての材料に共通していた部分は 1,303 bps におよび、全体の 99.5% を占めた。このことから、同属の *rbcL* 遺伝子における樹種間の塩基置換数は非常に少ないことが判明し、樹種間の分化がほとんど進んでいないことが示された。

cpDNA の *rbcL* 遺伝子における、各樹種間の塩基置換数を表-17 に示した。供試材料のなかで、塩基配列の共通部分が最も少ない樹種はトウカラマツであり、この樹種に特異的な塩基置換が 2 カ所で認められた。

樹種間で塩基置換が最も数多く認められたのは、トウカラマツとアメリカカラマツとの間で 5 カ所だった。その次に多かったのは、トウカラマツとセイブカラマツおよびタカネカラマツとの間、ならびにアメリカカラマツとヨーロッパカラマツおよびポーランドカラマツとの間での 4 カ所だった。一方、セイブカラマツとタカネカラマツの間には塩基置換が全く認められなかった。

変種間の塩基配列についてみると、ダフリアカラマツの変種間には塩基配列の差異が全く認められなかった。また、ヨーロッパカラマツとポーランドカラマツの塩基配列は完全に一致した。

考 察

rbcL の塩基配列データが分類学的に複雑な群の系統関係を解明するために効果的であることは、SOLTIS *et al.* (1990) によるユキノシタ (Saxifragaceae sensu lato) を用いた研究で示されている。WILSON *et al.* (1990) は、ヤシ科 (Arecaceae) 植物 22 種の cpDNA の *rbcL* 遺伝子約 1,000 bps の塩基配列解読を行い、制限サイト多型の結果や形態分類と一致することを解明した。また彼らは、同科の *rbcL* 遺伝子における全塩基置換率は、多年生植物のそれと比較して 8 分の 1 しかないことを明らかにした。クリ (*Castanea sativa* MILL.) でも、*rbcL* 遺伝子における置換速度が、他の被子植物のそれよりも非常に低い (FRASCARIA *et al.*, 1993)。このように、*rbcL* 遺伝子の塩基置換速度は植物種によって異なる。したがって、この遺伝子の塩基配列に基づいて系統関係を解明できるのは、科から属レベルおよび分化の進んだ種間レベルの範囲であると考えられる。

アカマツとクロマツとは、外部形態が類似することや天然雑種がしばしば見いだされることから、近縁関係にあるものと考えられてきた。ところが、両樹種について cpDNA の *rbcL* 遺伝子の塩基配列を解読した結果、385 塩基からなる配列中に 6 カ所の塩基置換があった (白石・渡邊, 1995)。一方、東アジアに分布する五葉松 5 樹種の同塩基配列には塩基置換が全く認められなかった (白石・渡邊, 1995)。このようにマツ属では、外部形態の類似性や雑種形成の容易さが、必ずしも遺伝的な近縁関係と一致しない。

表-15 カラマツ属の cpDNA における *rbcL* 遺伝子 (1,309 bps) の塩基配列Table 15. Sequence of cpDNA *rbcL* gene of *Larix* species (1,309 bps)

	10	20	30	40	50	60
<i>L. decidua</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
<i>L. sibirica</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
<i>L. gmelinii</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
<i>L. kaempferi</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
<i>L. laricina</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
<i>L. potaninii</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
<i>L. lyallii</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
<i>L. occidentalis</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT
	70	80	90	100	110	120
<i>L. decidua</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
<i>L. sibirica</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
<i>L. gmelinii</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
<i>L. kaempferi</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
<i>L. laricina</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
<i>L. potaninii</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
<i>L. lyallii</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
<i>L. occidentalis</i>	GGCAGCATT	CGAGTAACT	CTCAACCTGG	GGTGCCGCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT
	130	140	150	160	170	180
<i>L. decidua</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
<i>L. sibirica</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
<i>L. gmelinii</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
<i>L. kaempferi</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
<i>L. laricina</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
<i>L. potaninii</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
<i>L. lyallii</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
<i>L. occidentalis</i>	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	ACCGATGGAC	TTACTAGTCT
	190	200	210	220	230	240
<i>L. decidua</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
<i>L. sibirica</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
<i>L. gmelinii</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
<i>L. kaempferi</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
<i>L. laricina</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
<i>L. potaninii</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
<i>L. lyallii</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
<i>L. occidentalis</i>	TGATCGTTAC	AAGGGACGAT	GCTATGACAT	CGAGGCCGTT	CCTGGAGAGG	AAAGTCAATT
	250	260	270	280	290	300
<i>L. decidua</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
<i>L. sibirica</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
<i>L. gmelinii</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
<i>L. kaempferi</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
<i>L. laricina</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
<i>L. potaninii</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
<i>L. lyallii</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
<i>L. occidentalis</i>	TATTGCCTAT	GTAGCTTACC	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTTCTGTTA	CTAACTTGTT
	310	320	330	340	350	360
<i>L. decidua</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA
<i>L. sibirica</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA
<i>L. gmelinii</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA
<i>L. kaempferi</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA
<i>L. laricina</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA
<i>L. potaninii</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA
<i>L. lyallii</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA
<i>L. occidentalis</i>	CAC TTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	CGGGCTCTAC	GTTTGAAGA

Table 15. continued.

	370	380	390	400	410	420
<i>L. decidua</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
<i>L. sibirica</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
<i>L. gmelinii</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
<i>L. kaempferi</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
<i>L. laricina</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
<i>L. potaninii</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
<i>L. lyallii</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
<i>L. occidentalis</i>	TTTGCGGATC	CCCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	TTTTCAAGGT	CCACCTCATG	GTATCCAAGT
	430	440	450	460	470	480
<i>L. decidua</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
<i>L. sibirica</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
<i>L. gmelinii</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
<i>L. kaempferi</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
<i>L. laricina</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
<i>L. potaninii</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
<i>L. lyallii</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
<i>L. occidentalis</i>	CGAAAGGGAT	AAATTGAACA	AATATGGCCG	TCCTTTATTG	GGATGTACTA	TCAAACCAAA
	490	500	510	520	530	540
<i>L. decidua</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
<i>L. sibirica</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
<i>L. gmelinii</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
<i>L. kaempferi</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
<i>L. laricina</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
<i>L. potaninii</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
<i>L. lyallii</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
<i>L. occidentalis</i>	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAGA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	GAATGTCTCC	GTGGTGGACT
	550	560	570	580	590	600
<i>L. decidua</i>	CGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
<i>L. sibirica</i>	CGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
<i>L. gmelinii</i>	CGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
<i>L. kaempferi</i>	TGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
<i>L. laricina</i>	TGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
<i>L. potaninii</i>	CGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
<i>L. lyallii</i>	TGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
<i>L. occidentalis</i>	TGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG
	610	620	630	640	650	660
<i>L. decidua</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CACCTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
<i>L. sibirica</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CACCTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
<i>L. gmelinii</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CACCTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
<i>L. kaempferi</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CACCTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
<i>L. laricina</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CACCTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
<i>L. potaninii</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CAATTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
<i>L. lyallii</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CACCTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
<i>L. occidentalis</i>	TTTTGTCTTT	TGTGCGGAAG	CACCTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG
	670	680	690	700	710	720
<i>L. decidua</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAGTATTTGC
<i>L. sibirica</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAATATTTGC
<i>L. gmelinii</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAGTATTTGC
<i>L. kaempferi</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAATATTTGC
<i>L. laricina</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAATATTTGC
<i>L. potaninii</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAGTATTTGC
<i>L. lyallii</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAGTATTTGC
<i>L. occidentalis</i>	ACATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	ATGAAAAGGG	CAGTATTTGC

Table 15. continued.

	730	740	750	760	770	780
<i>L. decidua</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
<i>L. sibirica</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
<i>L. gmelinii</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
<i>L. kaempferi</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
<i>L. laricina</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
<i>L. potaninii</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
<i>L. lyallii</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
<i>L. occidentalis</i>	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCGTTATGCA	TGACTATCTG	ACGGGAGGTT	TTACTGCAAA
	790	800	810	820	830	840
<i>L. decidua</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
<i>L. sibirica</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
<i>L. gmelinii</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
<i>L. kaempferi</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
<i>L. laricina</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
<i>L. potaninii</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
<i>L. lyallii</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
<i>L. occidentalis</i>	TACTTCTTTG	GCTCATTATT	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT
	850	860	870	880	890	900
<i>L. decidua</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
<i>L. sibirica</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
<i>L. gmelinii</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
<i>L. kaempferi</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
<i>L. laricina</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
<i>L. potaninii</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
<i>L. lyallii</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
<i>L. occidentalis</i>	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAAATCA	TGGCATGCAT	TTCCGTGTAC	TGGCTAAAAGC
	910	920	930	940	950	960
<i>L. decidua</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
<i>L. sibirica</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
<i>L. gmelinii</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
<i>L. kaempferi</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
<i>L. laricina</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
<i>L. potaninii</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
<i>L. lyallii</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
<i>L. occidentalis</i>	ATTGCGTATG	TCCGGTGGAG	ATCATATTCA	CGCCGGTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG
	970	980	990	1000	1010	1020
<i>L. decidua</i>	GGAACGAGAC	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
<i>L. sibirica</i>	GGAACGAGAC	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
<i>L. gmelinii</i>	GGAACGAGAC	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
<i>L. kaempferi</i>	GGAACGAGAC	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
<i>L. laricina</i>	GGAACGAGAC	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
<i>L. potaninii</i>	GGAACGAGAA	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
<i>L. lyallii</i>	GGAACGAGAC	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
<i>L. occidentalis</i>	GGAACGAGAC	GTCACTTTAG	GGTTTGTTGA	TCTACTGCGT	GATGATTTTA	TTGAAAAAGA
	1030	1040	1050	1060	1070	1080
<i>L. decidua</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT
<i>L. sibirica</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT
<i>L. gmelinii</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT
<i>L. kaempferi</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT
<i>L. laricina</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT
<i>L. potaninii</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT
<i>L. lyallii</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT
<i>L. occidentalis</i>	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	CTGGGTATCT	ATGCCAGGTG	TTCTGCCCGT

Table 15. continued.

	1090	1100	1110	1120	1130	1140
<i>L. decidua</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
<i>L. sibirica</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
<i>L. gmelinii</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
<i>L. kaempferi</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
<i>L. laricina</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
<i>L. potaninii</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
<i>L. lyallii</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
<i>L. occidentalis</i>	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA
	1150	1160	1170	1180	1190	1200
<i>L. decidua</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
<i>L. sibirica</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
<i>L. gmelinii</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
<i>L. kaempferi</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
<i>L. laricina</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
<i>L. potaninii</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
<i>L. lyallii</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
<i>L. occidentalis</i>	TTCCGTA	CAGTTTGGTG	GGGGAAC	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT
	1210	1220	1230	1240	1250	1260
<i>L. decidua</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
<i>L. sibirica</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
<i>L. gmelinii</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
<i>L. kaempferi</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
<i>L. laricina</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
<i>L. potaninii</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
<i>L. lyallii</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
<i>L. occidentalis</i>	AGTAGCTAAT	CGGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	CGTAATGAAG	GACGTGATCT
	1270	1280	1290	1300	1310	1320
<i>L. decidua</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	
<i>L. sibirica</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	
<i>L. gmelinii</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	
<i>L. kaempferi</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	
<i>L. laricina</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	
<i>L. potaninii</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	
<i>L. lyallii</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	
<i>L. occidentalis</i>	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTACTAAA	TGGAGTCCT	

カラマツとグイマツは、*rbcL* 遺伝子上の塩基置換の有無が *Tth* による制限サイトの有無に一致し、これによって樹種判別できる (白石ら, 1996)。すなわち、カラマツにはない制限サイトがグイマツおよびダフリアカラマツの変種に存在する。しかし本研究において、*rbcL* 遺伝子の塩基配列だけではカラマツ属の系統を解明するに至らなかった。今後は、cpDNA のなかでも比較的多型を得やすい領域について塩基配列の解読を行うことが、樹種間の系統を推測するために必要である。例えば、*matK* 遺伝子は、*rbcL* 遺伝子の約 3 倍の速度で塩基置換する (STEELE and VILGALYS, 1994) ため、種間関係の推定には効果的であると考えられる。GIELLY and TABERLET (1994) は、cpDNA の非コード領域 (スパーサー) は *rbcL* などの遺伝子コード領域よりもより速い塩基置換速度で進化するものと考え、両者の塩基配列を比較した。非コード領域は平均して *rbcL* の 3 倍以上の進化速度を示した。このように、*rbcL* の塩基置換率が樹種間で低い値を示す属を対象とする場合、イントロン領域や遺伝子間スパーサー領域などの非コード領域の塩基配列を用いるのが適当だと考えられる。これらの塩基配列に基づくカラマツ属の系統推定は今後の課題である。

表-16 カラマツ属の cpDNA *rbcL* 遺伝子塩基配列のなかで塩基置換が認められた部位の塩基Table 16. The sequence of substitution in the cpDNA *rbcL* gene of *Larix* species

樹種	略号	塩基置換部位における塩基*					
		97	232	541	623	713	970
ヨーロッパカラマツ	<i>DEC</i>	G	A	C	C	G	C
ポーランドカラマツ	<i>POL</i>	G	A	C	C	G	C
シベリアカラマツ	<i>SIB</i>	G	G	C	C	A	C
ダフリアカラマツ	<i>GME</i>	G	G	C	C	G	C
グイマツ	<i>JAK</i>	G	G	C	C	G	C
チョウセンカラマツ	<i>OLK</i>	G	G	C	C	G	C
ホクシカラマツ	<i>PRI</i>	G	G	C	C	G	C
カラマツ	<i>KAE</i>	G	G	T	C	A	C
アメリカカラマツ	<i>LAR</i>	A	G	T	C	A	C
トウカラマツ	<i>POT</i>	G	G	C	A	G	A
タカネカラマツ	<i>LYA</i>	A	G	T	C	G	C
セイブカラマツ	<i>OCC</i>	A	G	T	C	G	C

* Each figure corresponds to the sequence number in Table 15.

表-17 カラマツ属の cpDNA *rbcL* 遺伝子で認められた各樹種間の塩基置換Table 17. The number of substitution among each *Larix* species cpDNA *rbcL*

	<i>DEC</i>	<i>POL</i>	<i>SIB</i>	<i>GME</i>	<i>OLK</i>	<i>JAK</i>	<i>PRI</i>	<i>KAE</i>	<i>LAR</i>	<i>LYA</i>	<i>OCC</i>	<i>POT</i>
<i>DEC</i>	—											
<i>POL</i>	0	—										
<i>SIB</i>	2	2	—									
<i>GME</i>	1	1	1	—								
<i>OLK</i>	1	1	1	0	—							
<i>JAK</i>	1	1	1	0	0	—						
<i>PRI</i>	1	1	1	0	0	0	—					
<i>KAE</i>	3	3	1	1	1	1	1	—				
<i>LAR</i>	4	4	2	3	3	3	3	1	—			
<i>LYA</i>	3	3	3	2	2	2	2	2	1	—		
<i>OCC</i>	3	3	3	2	2	2	2	2	1	0	—	
<i>POT</i>	3	3	3	2	2	2	2	5	4	4	4	—

Abbreviations are shown in Table 10.

また、cpDNA 以外では、核リボソーム DNA の ITS 領域 (Internal Transcribed Spacer) の塩基配列が植物の系統関係の解明に用いられている (BALDWIN *et al.*, 1995; LISTON *et al.*, 1996)。マツ科ではマツ属の *Pinus pinea* で ITS 領域の塩基配列が解読され、他の属への応用が可能になった (MARROCCO *et al.*, 1996)。ITS 領域は cpDNA の *rbcL* 遺伝子に比べ、塩基置換速度が速いため、属内の種間関係の推定に適しているといわれる。カラマツ属でも ITS 領域における塩基配列が解読され (GERNANDTA and LISTON, 1999)、*rbcL* の場合よりも多型サイトが数多く存在することが示された。しかし、ITS の結果をみても、近縁種の系統を解明するには至っておらず、系統推定に適した領域を検索する必要がある。

3 節 核ゲノムの RAPD 法に基づくカラマツ属の類縁関係

カラマツ属樹種の系統を解明するために、cpDNA の RFLP 分析 (1 節) や *rbcL* 遺伝子の塩基配列解読 (2 節) を行ったが、系統関係を論ずるに十分な情報を得るに至らなかった。このため、同属の系統解明には、さらに感度の高い分析方法を適用する必要がある。

RAPD (Randomly amplified polymorphic DNA) は、10 塩基長のプライマーを用いて鋳型 DNA を任意に増幅させる手法であり (WILLIAMS *et al.*, 1990), 多型を得るのが非常に容易な DNA マーカーである。このことから、クローン分析 (楢崎ら, 1996; LEGIONNET *et al.*, 1997; SCHEEPERS *et al.*, 1997), フィンガープリントによる樹種判別 (PERRON *et al.*, 1995; RATNAPARKHE *et al.*, 1995; KHASA and DANCIC, 1996) および連鎖地図の作成 (ROWLAND and LEVI, 1994; PELTIER *et al.*, 1994; BINELLI and BUCCI, 1994), 遺伝子と連鎖するマーカーの開発 (MARTIN *et al.*, 1991; LEHNER *et al.*, 1995; CHENG *et al.*, 1996) など幅広い分野で活用されている。また, RAPD を用いて, 植物の種間関係や種内変異を調べた例は非常に数が多い (HUFF *et al.*, 1993; M'RIBU and HILU, 1994; NOVY *et al.*, 1994; ABO-ELWafa *et al.*, 1995; BUCCI and MENOZZI 1995; STAMMERS *et al.*, 1995; GRAHAM and McNICOL, 1995; MAGUIRE and SEDGLEY, 1997; SHARMA *et al.*, 1995; 白石ら, 1996; SCHNELL *et al.*, 1995; YU and LIN, 1997; SKEPNER and KRANE, 1998)。

一方, RAPD では, あるプライマーを用いた PCR 増幅物のうち, 同長の 2 本のバンドが相同なものである保証がない。また, RAPD は優性マーカーであるため (CARLSON *et al.*, 1991), 対立遺伝子頻度を推定することが困難であり, 集団遺伝学に応用しにくい。これについては, 共優性を示す RAPD マーカーの検出も開発されつつある (DAVIS *et al.*, 1995; NOVY and VORSA, 1996)。さらに, RAPD によって得られる結果は, PCR 条件に左右されるため再現性が低いともいわれ, その有効性が評価されている。SKROCH and NIENHUIS (1991) は, RAPD データのスコアエラーと再現性が, RAPD に基づいて推定された遺伝距離に及ぼす影響を評価した。RAPD を用いることで生じるエラーの原因は, PCR の際に生じるヌクレオチド間の競合であるとされる (HALLDEN *et al.*, 1996)。また, RAPD マーカーは, RFLP マーカーと比較されたり (TIVANG and OSBORN, 1994), ISSR (inter-simple sequence repeat) 多型および RFLP マーカーと比較された (NAGAOKA and OGIHARA, 1997)。いずれも, RAPD マーカーによって得られた結果と, 他の DNA マーカーによって得られた結果との間には, 大きな差は認められないことが明らかにされた。従って, PCR 条件に細心の注意を払えば, RAPD は再現性のある, 遺伝的に有効なマーカーであると考えられる。今回, カラマツ属樹種について RAPD 分析を行い, 樹種間の類縁関係を解明した。

材料および方法

材料

供試材料は, 1 節と同じく 8 樹種 4 変種である (表-10)。なお, 1 タクサにつき 1 個体を材料とした。これは, PCR 条件の不統一から生じる RAPD の再現性の低さを考慮し, 一つのプライマーによる実験を, PCR から電気泳動まで全て同一条件で同時に行う方針を取ったため, 実験可能な材料の数に限界が生じたからである。

表-18 RAPD 分析に用いたランダムプライマーと得られた多型バンド数

Table 18. Primers utilized in the RAPD experiment and the number of polymorphic loci seen with each primer

プライマー	多型バンド数	プライマー	多型バンド数	プライマー	多型バンド数
A-08	3	F-02	1	N-12	4
A-12	3	F-15	3	O-04	1
A-17	3	G-11	3	O-16	5
B-01	4	G-13	3	R-11	2
B-02	2	H-14	5	S-18	3
B-03	2	H-19	3	T-02	4
B-08	4	I-01	3	T-14	4
B-11	3	D-16	2	W-15	5
B-12	4	D-12	1	FB1*	4
C-03	3	K-03	3	FB2**	3
C-06	3	L-09	2	FB5***	5
E-12	3	N-07	5		

The primers were products of Operon Tech. (U.S.A.), except those shown below.

* 5'-CCACCGCCAG-3'

** 5'-CAGTTCTGGC-3'

*** 5'-ACTCGTAGCC-3'

ランダムプライマーによる DNA の増幅

DNA の増幅はキャピラリー PCR (Idaho Technology 社) を用いて行った。反応液は 10 μ l 中に Tris-HCl (pH 8.5) を 50 mM, MgCl₂ を 5 mM, BSA を 500 μ g/ml, それぞれ 0.5 mM の dCTP, dGTP, dATP および dTTP (Pharmacia 社), Ficoll を 2.0%, Tartrazine を 4 mM, *Tth* DNA ポリメラーゼ (TOYOBO) を 0.4 ユニット, プライマーを 0.25 μ M, そして 10 ng のテンプレート DNA を含んだものである (白石ら, 1996)。

プライマーは 10 塩基長のもを 35 種類用い (表-18), うち 32 種類が市販品 (Operon 社), 3 種類が九州大学農学部木本植物学教室によって合成されたものである (白石ら, 1996)。

PCR サイクルは最初に 93°C で 60 秒の変性をした後, 93°C で 10 秒の変性, 36°C で 30 秒のアニーリングおよび 72°C で 60 秒の伸長の 3 過程を 60 回繰り返し, その後 72°C で 120 秒の伸長反応, 最後に 30°C で 30 秒とした。

電気泳動

PCR 増幅産物を, 1×TBE バッファー中に浸した濃度 1.0% のアガロースゲル (GL3, Pharmacia 社) 上において, 120 V で 3 時間電気泳動させた。泳動後, ゲルを 0.5 μ l/ml のエチジウムブロマイドで染色した後に紫外線を照射し, 泳動像を撮影した。

RAPD マーカーの短所には PCR 条件が異なるために生じる再現性の低さがある。また, 得られた泳動像には濃淡が生じることがあり, その際のサンプリングエラーが結果に悪影響を及ぼすことがある (SKROCH and NIENHUIS, 1991)。この再現性の低さを最小限にするために, 一つのプライマーによる PCR 増幅を同時に行い, 1 枚のゲルで電気泳動を完結させるなど, 条件の統一に配慮した。さらに, できるだけ数多くプライマーを用いて分析を行い, 得られたバンドのなかで像が薄く不明瞭なものは極力除外した。これらの点に注意することで, より信頼度の高いデータが得られるものと考えられる。

データ解析

各樹種ごとに、バンドがある(1)またはない(0)のどちらか一方とし、2進法のマトリックスを作成した。ゲノタイプをグループ分けするために、類似度評価をバンドの共有性から行った(NEI and LI, 1979)。これによって F 値を求め、遺伝距離 (D) を算出した (NEI and LI, 1979)。

$$D=1-F=1-2n_{XY}/(n_X+n_Y)$$

ただし、 n_{XY} は比較する2個体(X, Y)が共有するバンド数、 n_X はX個体が保有するバンド数、 n_Y はY個体が保有するバンド数を示す。

この遺伝距離をもとに、平均距離法の一つであるUPGMA法(unweighted pair-group method using arithmetic averages)を用いて樹形図の作成を行った(SNEATH and SOKAL, 1973)。

結果

カラマツ属樹種の類縁関係を解明するために、各樹種のDNAを35種類のプライマーで増幅したところ、111本の明瞭な多型バンド(RAPD マーカー)が得られた(表-18, 図-19)。マー

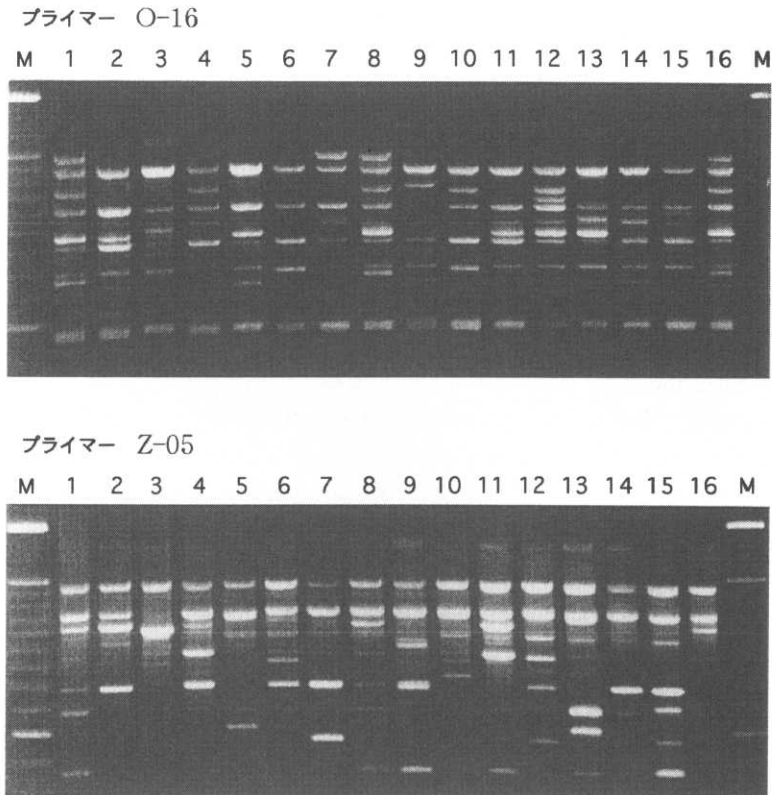


図-19 カラマツ属樹種を RAPD 分析して得られた泳動像の例

Fig. 19. An example of gel electrophoresis in the RAPD analysis on *Larix* species. M, DNA size marker; 1-16, *Larix* samples.

表-19 RAPD マーカー 111 本から算出したカラマツ属樹種間の遺伝距離 (NEI & LI, 1979)

Table 19. Genetic distances among the *Larix* taxa generated from 111 RAPD polymorphisms (NEI & LI, 1979)

	DEC	POL	SIB	GME	OLK	OLM	JAK	JAS	PRI	KAE	LAR	LYA	OCC	POT
DEC	—													
POL	0.12	—												
SIB	0.36	0.40	—											
GME	0.48	0.48	0.34	—										
OLK	0.36	0.40	0.34	0.21	—									
OLM	0.47	0.47	0.40	0.25	0.25	—								
JAK	0.37	0.40	0.37	0.29	0.25	0.29	—							
JAS	0.41	0.45	0.41	0.33	0.29	0.33	0.22	—						
PRI	0.43	0.49	0.41	0.27	0.25	0.31	0.29	0.31	—					
KAE	0.40	0.46	0.45	0.38	0.32	0.32	0.35	0.41	0.35	—				
LAR	0.59	0.54	0.61	0.58	0.58	0.51	0.52	0.57	0.55	0.63	—			
LYA	0.53	0.53	0.49	0.48	0.52	0.46	0.53	0.45	0.50	0.55	0.50	—		
OCC	0.55	0.47	0.55	0.46	0.51	0.48	0.49	0.41	0.48	0.56	0.53	0.16	—	
POT	0.66	0.69	0.63	0.58	0.60	0.64	0.58	0.62	0.52	0.71	0.69	0.66	0.70	—

Abbreviations are shown in Table 10.

カーの長さは 0.5~2.0 kbp の範囲だった。1 プライマー当たりの平均マーカー数は 3.17 本だった。実際はこの 3 倍以上の本数のバンドが得られた。しかし、それらのバンド像は薄く不明瞭で、再現性の低さが予想されたために RAPD マーカーには含めなかった。

樹種間の遺伝距離を NEI and LI (1979) の方法に従って算出し、表-19 に示した。樹種間の遺伝距離のなかで最も大きかったものは、カラマツとトウカラマツとの間でみられた 0.71 だった。次が、トウカラマツとセイブカラマツとの間で 0.70、トウカラマツとアメリカカラマツおよびポーランドカラマツとの間で 0.69 だった。一方、トウカラマツとの間で遺伝距離が小さい樹種は、ホクシカラマツ、ダフリアカラマツ、グイマツ千島系などのダフリアカラマツ系樹種で、遺伝距離はそれぞれ 0.52, 0.58, 0.58 を示した。このようにトウカラマツの遺伝距離は、他のいずれの樹種との間で大きい値を示した。

一方、遺伝距離が小さいものについてみると、セイブカラマツとタカネカラマツとの間で 0.16、ヨーロッパカラマツとポーランドカラマツとの間で 0.12 であり、各材料間の遺伝的差異が非常に小さいことが示された。これらの値は、次に示すダフリアカラマツの変種間でみられた値よりも小さなものだった。

ダフリアカラマツの変種間の遺伝距離をみると、他の樹種間のように大きな値を示すものはみられなかった。変種間で最も大きい遺伝距離を示したのは、グイマツ樺太系とダフリアカラマツおよびマンシュウカラマツとの間の 0.33 であった。一方、変種間で最も小さかったのは、ダフリアカラマツとチョウセンカラマツとの間の 0.21 だった。グイマツでは千島系と樺太系の間で 0.22 と小さかった。次いで、ダフリアカラマツとマンシュウカラマツとの間、チョウセンカラマツとマンシュウカラマツ、グイマツ千島系、およびホクシカラマツとの間の 0.25 だった。

NEI and LI (1979) の方法によって得られたカラマツ属樹種間の遺伝距離を用い、UPGMA 法ならびに Jaccard 法 (SNEATH and SOKAL, 1973) によってクラスター分析を行った。いずれの方法においても同様の樹形が得られたため、今回得られた 111 本の RAPD マーカーは樹形図を描

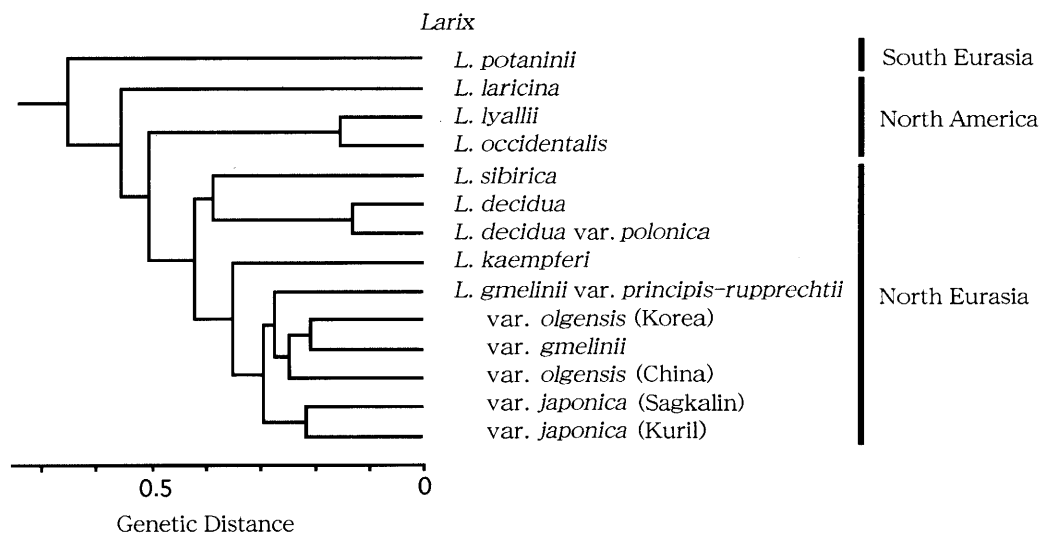


図-20 遺伝距離をもとにUPGMA法によって得られたカラマツ属樹種の樹形図
Fig. 20. Dendrogram of *Larix* phylogeny generated by the cluster analysis of UPGMA.

写するのに十分な本数であると考えられる。UPGMA法によって得られたカラマツ属の樹形図を図-20に示した。ユーラシア大陸に分布する樹種群は、トウカラマツを除くと、一つのクラスターにまとまった。このクラスターに属さない樹種は、トウカラマツ、アメリカカラマツ、セイブカラマツおよびタカネカラマツだった。

さらに、遺伝距離と形態分類との関係についてみると、遺伝距離に基づくクラスターはカラマツ節において認められたが、ナガミカラマツ節では認められなかった。ただし、カラマツ節に属する樹種のうちアメリカカラマツだけは、カラマツ節の樹種によって形成されるクラスターに属さなかった。アメリカカラマツとカラマツ節樹種との間で最も遺伝距離が近かったのは、マンシュウカラマツとの0.51、グイマツ千島系との0.52であり、比較的大きい値を示した。アメリカカラマツとの遺伝距離が最も小さかった樹種はタカネカラマツで0.50だった。このようにアメリカカラマツは、形態分類による節に関係なく、いずれの樹種とも遺伝的に離れていることが示された。

カラマツ節のクラスターに含まれた樹種間についてみると、ダフリアカラマツ、カラマツ、シベリアカラマツならびにヨーロッパカラマツの各樹種間の遺伝距離は0.34から0.48までの範囲の値を示し、樹種間の顕著な隔たりが認められた。

このようにRAPD分析による結果は、RFLPの結果(3章1節)とほぼ同様の類縁関係を示すものだった。

考 察

1) ポーランドカラマツはヨーロッパカラマツとシベリアカラマツの雑種か

ポーランドカラマツは、地理分布と球果の形態によって、ヨーロッパカラマツとシベリアカラマツとの雑種であると推定される(BOBROV, 1972; LEPAGE and BASINGER, 1991)。これらの樹種

のフェノロジーをみると、黄葉と落葉の時期は3樹種間で異なり、シベリアカラマツが早く、ヨーロッパカラマツが遅く、ポーランドカラマツは両者の中間を示す(木佐貫・倉橋, 1995)。また、ヨーロッパカラマツの天然分布は不連続であり、それぞれの地域集団間には比較的大きな遺伝的変異が保持されている(LEWANDOWSKI and MEJNARTOWICZ, 1991)。これに対し、ヨーロッパカラマツとポーランドカラマツの間にはアイソザイム変異が少なく、後者の遺伝的変異は前者の地域集団レベルである(LEWANDOWSKI, 1997)。一方、これら2樹種は、シベリアカラマツに対しては大きな遺伝距離を示す(LEWANDOWSKI, 1997)。ポーランドカラマツの分布に最も近いシベリアカラマツの西部集団で、時に独立種 *L. sukaczewii* とされる集団には、アロザイム変異がなく遺伝的に均一であるものと推測される(TIMERJANOV, 1997)。

cpDNAの制限サイトをみると、ヨーロッパカラマツおよびポーランドカラマツとシベリアカラマツとの間で異なる(3章1節)。RAPDの結果をみると、ヨーロッパカラマツとポーランドカラマツとは非常に近縁であり、シベリアカラマツとは近縁ではないことが示された。これらの集団生物学的な知見および分子情報から、ポーランドカラマツがヨーロッパカラマツとシベリアカラマツの雑種であるとするBOBROV説は否定された。このように、RAPDの結果が、アイソザイムやcpDNAのRFLPから得られた知見と一致した。このことは、RAPDがカラマツ属の類縁関係を解明するために有効であることを示唆する。

2) タカネカラマツとセイブカラマツ

タカネカラマツとセイブカラマツは、RAPD法によって、非常に近縁であることが明らかとなった。両樹種の分布は重複し、天然林において雑種がしばしば認められる(CARLSON and THEROUX, 1993)。このため、過去から現在に至るまでに遺伝子交流が盛んに行われてきたものと考えられ、両樹種間は別種とされるほどには遺伝的分化が進んでいないことが示唆される。

3) アメリカカラマツ

アメリカカラマツはカラマツ節に属するが、cpDNAのRFLP分析の結果、カラマツ節樹種よりも北アメリカ大陸に分布するナガミカラマツ節のタカネカラマツとセイブカラマツに近縁であると推測された(3章1節)。RAPDによる遺伝距離をみても、アメリカカラマツは他のカラマツ節樹種と近縁関係にあるとはいえなかった。さらに、RAPDの結果、同樹種は他のいずれの樹種とも近縁関係になかった。アメリカカラマツは、球果サイズが非常に小さく、その形態も特徴的である。また、他樹種のほとんどが2年生枝に着花し、開花周期が6~7年であるのに対して、アメリカカラマツは2年生枝だけでなく1年生枝にも着花し(POWELL *et al.*, 1984)、開花周期が他樹種よりも短い。これらの形態的および生態的特徴ならびに今回得られた分子情報から、アメリカカラマツはカラマツ属のなかでも特異な遺伝的背景をもつ樹種である可能性があり、系統的な位置づけは種鱗と苞鱗の長さだけによらずに再考を要するものと考えられる。

4) ダフリアカラマツおよびその変種

ダフリアカラマツおよびその変種の分類は、カラマツ属のなかでも困難を極める(FARJON, 1990)。変種間の遺伝距離をみると、他の樹種間でみられるような大きな値を示すものはなかった。このことから、同樹種の変種は、遺伝的に近縁な一つの群に属することが示された。変種のなかで最も近縁関係にあるのは、地理的に隣接して分布するダフリアカラマツとチョウセンカラマツだった。チョウセンカラマツはマンシュウカラマツと同種だとされるが、チョウセンカラマツがマンシュウカラマツよりもダフリアカラマツに近かったことは、ダフリアカラマツのサンブ

ルがチョウセンカラマツの分布地に近いロシアと中国東北部との国境付近から採集されたことが影響したと考えられる。

グイマツ千島系と樺太系の RAPD による遺伝的な関係は、ダフリアカラマツの変種のなかでも近縁関係にあると位置づけられたが、ヨーロッパカラマツとポーランドカラマツならびにセイブカラマツとタカネカラマツとの間の遺伝距離よりも大きい値を示した。このため、グイマツは千島系と樺太系とで変種レベルにまで分化している可能性が示唆される。

変種のなかで遺伝的に最も離れていたのは、グイマツ樺太系とダフリアカラマツおよびマンシュウカラマツだった。これらの樹種は、比較的近距离に分布するが、グイマツ樺太系がサハリンすなわち沿岸部に分布するのに対し、後二者は大陸内陸部に分布する。生育立地の顕著な違いにより、過去における両者間の遺伝的交流が比較的困難だったのかもしれない。

5) カラマツ

東アジアのカラマツのなかで、独立した樹種として疑いのないものとされるのはカラマツだけである (FARJON, 1990)。遺伝的側面についてみても、カラマツとダフリアカラマツとの間には、*rbcL* 遺伝子において塩基置換が認められる (白石ら, 1996)。また、苞鱗の形態に基づく系統分類では、カラマツはカラマツ属南限の樹種であるヒマラヤカラマツ、シセンカラマツ、トウカラマツなど同一の系統に属する (LEPAGE and BASINGER, 1991; SCHORN, 1994)。しかし、RAPD の結果をみると、カラマツはチョウセンカラマツやマンシュウカラマツなどのダフリアカラマツの変種と最も近縁だった。また、ダフリアカラマツの変種のなかでカラマツと最も遺伝的に離れていたのがグイマツ樺太系だったことは、カラマツがサハリン経由ではなく、朝鮮半島経由で日本列島に渡来したことを示唆する。

6) トウカラマツ

トウカラマツは、今回の材料のなかで、最も類似度が低い樹種だった。同樹種と遺伝的に最も近かったのは、ホクシカラマツなどのダフリアカラマツだった。なお、ホクシカラマツの地理分布はトウカラマツのと最も近い。今回、材料に含めることができなかったヒマラヤカラマツおよびシセンカラマツは、トウカラマツと同様に中国南部やヒマラヤ山脈北部の比較的狭い範囲に分布する。これら 3 樹種はすべてナガミカラマツ節に属し、3 樹種は近縁な関係にある可能性が考えられるが、このことを解明するためには材料の収集を早急に行う必要がある。

まとめ

cpDNA の RFLP や *rbcL* 遺伝子の塩基配列からは解明できなかったカラマツ属の類縁関係が、RAPD 法によって明らかになった。その結果は、形態に基づく従来の分類とおおむね一致したが、アメリカカラマツがカラマツ節の樹種と近縁でないことや、タカネカラマツとセイブカラマツは非常に近縁であることなど、新知見が得られた。今後、ヒマラヤカラマツおよびシセンカラマツを含めた解析が行われ、さらに北アメリカ大陸の 3 樹種が数多くの産地を対象に解析されることで、アメリカカラマツの系統的な位置づけが明確にされることが望まれる。

4 章 カラマツ属の系統

1 節 現生種と化石記録によるカラマツ属の分類

カラマツ属は球果の形態によって分類されるが、その変異が著しいために明確に分類するのが

困難な樹種も少なくない。なかでも、分類が困難とされるダフリアカラマツには変種が数多く記載されており、その分布周辺では現在でも種の分化が進行していると考えられる (FARJON, 1990)。一方、ナガミカラマツ節に属する樹種は、地理分布がいずれも狭い範囲に限定されることから、遺存的な樹種であると推測される (FARJON, 1990)。

種鱗が閉じた球果において苞鱗が種鱗から出ているか否かに基づいて、カラマツ属は二つの節に分類される (PATSCHE, 1913)。それでは、種鱗や苞鱗の長さによる分類は普遍性のあるものなのだろうか。一つのカラマツ個体においても種鱗長は開花年ごとに若干変化することが観察され、球果の着生部位による種鱗長の個体内変異もあることが知られる (NIKLAS, 1992)。これは球果の種鱗サイズが、着花枝における光条件に依存するからだと考えられる。他のマツ科属をみても、種鱗と苞鱗の相対的な長さの関係を分類に用いた例は極めて少ない。他属における例として、モミ属のトドマツ (*Abies sachalinensis* (FR. SCHM.) MASTERS) では、苞鱗が種鱗よりも顕著に長いものはアオトドマツ (*Abies sachalinensis* var. *mayriana* MIYABE et KUDO), 苞鱗が種鱗とほとんど同じ長さのものはアカトドマツ (*Abies sachalinensis*) とされ、変種レベルで識別されることがある (林, 1960)。しかし、両者が混生する地域は数多くあり、それらの地域では苞鱗長と種鱗長において中間的な形質が数多くみられるため (倉橋・濱谷, 1981), アカトドマツとアオトドマツとの明確な分類は極めて困難である。苞鱗の相対的な長さは、非常に変化しやすく、それだけを基準に亜属や節レベルの分類を行えるほど保存性の良い形態ではない (SCHORN, 1994)。したがって、種鱗と苞鱗の相対長を分類に用いるのは好ましくないと考えられる。

一方、LEPAGE and BASINGER (1991) は現生種の球果を調べ、苞鱗の形態が球果のなかで最も一貫性のある要素だと考え、それが系統を反映しており分類に最も有効な形質だとした。SCHORN (1994) は、化石記録および現生種の苞鱗を比較し、カラマツ属の苞鱗が、発生的、歴史的にみて、樹種間で連続した形態であると考えた。彼は、従来の球果形態による分類に、新たに苞鱗の情報を加味し、これをもとにカラマツ属を次のように分類再編した。

- I “Aristatus” 苞鱗は種鱗から顕著に突出する。苞鱗の先端は顕著に3裂する。(セイブカラマツ, タカネカラマツ)
- IIa “Laminatus” 苞鱗は種鱗よりも少しだけ長い。苞鱗の先端は中心部のみが突出する。(ヒマラヤカラマツ, シセンカラマツ, トウカラマツ, カラマツ)
- IIb “Laminatus” 苞鱗は種鱗より短い。苞鱗の先端は中心部だけが長い。(ヨーロッパカラマツ, シベリアカラマツ, ダフリアカラマツ, アメリカカラマツ)

この分類に特徴的なのは、カラマツをヒマラヤカラマツ, トウカラマツ, シセンカラマツと明確に近縁であるとしたことである。苞鱗, 特にその先端部分の形態に基づくカラマツ属の分類は、単に苞鱗が種鱗よりも長いかどうかというだけで分類するよりは、生殖器官の形態に基づいている点で系統学的に根拠あるものと考えられる。ただし、苞鱗の形態による分類に関しては、数多くの個体についてのデータを収集し、苞鱗形態の種内変異を明確にしたうえで再検討するべきだと考えられる。

カラマツ属最古の化石は、北アメリカ大陸の高緯度地域における第三紀始新世 (Eocene) 中期から後期の堆積層から出土した苞鱗の短いタイプ (LEPAGE and BASINGER, 1991) と、米国アイダホ州のサンダーマウンテンおよびコールクリーク (Coal Creek) における約4,500万年前のアイダホ植物相から出土したもの (AXELROD, 1990) である。SCHORN (1994) は、後者の化石を苞鱗の

長いタカネカラマツのようなものであるとしたが、化石の状態が悪く (AXELROD, 1990), そう断定するのは困難である。ただし、現生の数樹種の分布付近に第三紀の化石が集中的に出土するのは、北アメリカ大陸が同属の起源であることを示唆する。

さらに、LEPAGE and BASINGER (1991) は、世界各地から産出したカラマツ属の化石記録をまとめ、最も古い化石球果および第四紀にユーラシアから北アメリカにかけて広く出土する化石球果の形態が、苞鱗の短いタイプすなわちカラマツ節に該当することから、同節がカラマツ属の祖先型であるとした。また、各地域における化石の産出年代から、同属が北アメリカ大陸北部起源であると推測し、北アメリカ北部から同大陸全域に広がった群と、当時陸続きだったベーリングを経由してユーラシアに渡った群とに分かれたと推論した。ベーリングを渡り南進したカラマツ属は、ダフリアカラマツ、カラマツ、および中国南部からヒマラヤにかけて分布するナガミカラマツ節などに分化し、西進したものはシベリアカラマツとなり、最終的にヨーロッパに達してヨーロッパカラマツになったとされる。ヨーロッパではカラマツ属の遺体が中新世や鮮新世から出土したとされている (FLORIN, 1963) が、LEPAGE and BASINGER (1991) には記されていない。カラマツ属が北アメリカ大陸からベーリングを渡りシベリアを西進したころ、北アメリカ大陸とヨーロッパ大陸とは陸続きではなく、現在のヨーロッパとシベリアとの間もターガイ海峡によって隔てられていたため、ヨーロッパに同属が到達するのが遅れたようである。さらに、鮮新世—更新世のヨーロッパは同属にとって温暖すぎたため (LEPAGE and BASINGER, 1991; MILLER and LI, 1994), 同属は鮮新世までヨーロッパに達することができず、氷河期の最中にようやく達したと推測される (LEPAGE and BASINGER, 1991)。また、間氷期にはアルプス山脈やカルパチア山脈に避難していたと推測され (SCHORN, 1994), このときに縮小された分布が現在も残っていると考えられる。

ナガミカラマツ節樹種の現在の分布はいずれも狭く遺存分布的であるが、カラマツ節よりも古い化石が発見されておらず、古生物学者からは比較的新しい節であると考えられている (LEPAGE and BASINGER, 1991)。ヒマラヤカラマツ、シセンカラマツ、およびトウカラマツは分布が隔離していることと分布面積が狭いことから、カラマツ属のなかでも古い部類に属するのではないかと推定されることもある。しかし、これらのいずれの樹種についても、未だに化石が全く発掘されていない。このため、化石からカラマツ属の祖先を推定するには、中国南部からヒマラヤにかけて分布するこれら3樹種の化石の発掘が必須である。ナガミカラマツ節に属する現生樹種の化石が産出されないのは、その生育地がいずれも付近に湿原などがない高標高山岳地帯に限られており、球果や花粉が化石として残りにくいからである。

このように、ユーラシア南部に分布する3樹種の化石が発掘されるまでは、化石情報によってカラマツ属の先祖および起源を解明することは困難であると考えられる。化石の発掘には時間を要するうえ、ユーラシア南部に化石が存在するかどうか不明である。このため、同属の起源を解明するためには、DNA分析によって得られる現生樹種の分子情報をもとに検討するのが有効であると考えられる。

2節 カラマツ属樹種のフェノロジー特性と系統

カラマツ属は、その耐凍性や耐寒性の高さによって、寒冷な地域において優占する。同属の冬芽は、枝条原基が胚的構造で小さいため、寒冷乾燥気候に適応している (酒井, 1995)。針葉樹に

において冬芽が -50°C 以下の凍結に耐える樹種をもつ属は、同属の他にマツ科のマツ属、トウヒ属およびモミ属、ならびにヒノキ科ニオイヒバ属(*Thuja*)に限定される(酒井, 1983)。ニオイヒバ属を除くこれらの属は、寒冷な地域を中心とする広い範囲に分布している。

カラマツ属のフェノロジーを樹種間で比較すると、開芽と開花は各樹種でほぼ同時期に行われる(2章1節)が、冬芽形成や黄葉には分布緯度と関連していると考えられる樹種が数多く、樹種間差や系統間差が顕著に認められる(2章2節, 木佐貫・倉橋, 1999)。種子落下の時期もまた、樹種によって顕著に異なった(2章3節)。これらのフェノロジーにおける差違と、同属が広大な範囲に分布することの関連性を考察した。

1) 春季フェノロジー

カラマツ属の春季フェノロジーには樹種間差がほとんど認められない(2章1節)。それでは、同属の開芽時期は、分布地における生育上の利点になっているのだろうか。

カナダや米国アラスカ州における湿地林では、常緑針葉樹のクロトウヒ(*Picea mariana*)とアメリカカラマツが広範囲に分布する。そこでは、開芽から黄葉あるいは光合成停止までの生育期間が短く、樹木の生育にとって非常に厳しい環境にある。また、これらの地域は永久凍土地帯に該当する。永久凍土地帯では、春先に気温が上昇し日射が強くなるにしたがって、枝葉の温度が上昇しても、土壌は凍結した状態なので植物は吸水することができない。このため、常緑葉をつけるクロトウヒは厳しい乾燥ストレスにさらされるが、気孔を閉じることでかろうじて乾燥に耐える(BERG and CHAPIN, 1994)。一方、アメリカカラマツは、この乾燥期間を落葉した状態で回避できる(BERG and CHAPIN, 1994)。このため、同樹種の落葉性は永久凍土地帯において春の乾燥に耐えるのに有効であり、開芽するための温度条件は同樹種の耐乾燥性にとって重要である。

ダフリアカラマツは、広大なタイガが広がる東シベリアにおける優占樹種である。そこで優占する理由は、同樹種が永久凍土地帯と結びつき、浅い活動層、低地温、さらに過湿の立地条件に耐えるからである(酒井, 1995)。シベリアカラマツとダフリアカラマツが分布する東シベリア南部のザバイカルでは、シベリアカラマツは急流となる谷の排水の良いところや、地温が比較的高い南斜面に分布するが、ダフリアカラマツは浅い谷の寒冷な低地や活動層の浅い北斜面の段丘などに分布する(DYLLIS, 1961)。

このように、アメリカカラマツとダフリアカラマツは、カラマツ属のなかでもとりわけ永久凍土による春季の強い乾燥ストレスや短い生育期間にうまく適応した樹種だと考えられる。

同所的に植栽されたカラマツ属樹種の春季フェノロジーはほぼ同調し、気温に対する開芽と開花の反応が樹種間で同様であることが類推される(2章1節)。したがって、アメリカカラマツとダフリアカラマツが永久凍土帯に適応している要因には、開芽特性だけではなく、浅根性や養分吸収力なども関連しているものと考えられる。

2) 黄葉と落葉のフェノロジー

カラマツ属の開芽および開花の時期には樹種間差が認められず、それらは気温に反応していると考えられた(2章1節)。それでは、樹種間で顕著な差違が認められた秋季フェノロジー(2章2節)には、適応の意味があるのだろうか。同属の落葉性は、冬季の低温に耐え得る丈夫な葉を作る必要がないことから、寒冷地域への適応に寄与していると考えられる。同属の起源は、激寒の環境に適応した落葉性の起源としても興味深い。

黄葉と落葉の時期は、資源の少ない立地環境に生育する樹種にとって生育期間の長さに影響す

るため重要である。土壤養分の乏しい湿地に生育するクロトウヒとアメリカカラマツの葉の養分濃度 (N, P, Ca) が季節別、葉齢別に調べられ、アメリカカラマツの葉ではクロトウヒのそれよりも N 含量が顕著に高いことから、 N の吸収において優れていることが推測された (TYRRELL and BOERNER, 1987)。アメリカカラマツの葉の N 含量は9月までコンスタントに高く維持され、10月になって急速に N と P が葉から枝に転流される (CHAPIN and TYRON, 1983)。同樹種における N の転流率は74% と非常に高い (TYRRELL and BOERNER, 1987)。土壤養分条件が乏しい湿地に生育するアメリカカラマツにおける N と P の転流率は、湿地でない立地に生育する同樹種のそれよりも10~40% 高く (CHAPIN and KEDROWSKI, 1983; TYRRELL and BOERNER, 1987)、生育地の養分条件によって異なる。このことから、光合成期間の終わりを示す黄葉時期の遅早は、葉から枝への養分転流率に関係すると思われる。つまり、黄葉時期が早すぎると光合成による物質生産量が少なくなり、遅すぎると早霜害などによって褐変し、転流率の低下が予測される。したがって、黄葉時期の決定は養分の転流率の高さを維持するために重要であり、各樹種の黄葉日は生育地における日長や低温の到来時期などの影響を受けて遺伝的に決定されたものと考えられる。

カラマツ属の実生における伸長成長停止 (冬芽形成) 時期は、分布緯度と高い相関が認められた (木佐貫・倉橋, 1999)。一方、黄葉と落葉の時期については、成木では分布緯度が低いほど黄葉および落葉が遅くなる傾向がみられた (2章2節)。しかし実生では、高緯度に分布する樹種において、黄葉が早くない系統が認められ、黄葉と分布緯度との相関は明瞭でない (木佐貫・倉橋, 1999)。また、分布が広範囲に及ぶダフリアカラマツの変種や系統をみると、分布の緯度差が小さい系統同士では、緯度に対応した黄葉時期の遅早が必ずしもみられなかった。これらのことから、ダフリアカラマツにみられる黄葉時期の遅早は、各系統がそれぞれの分布地における気候および栄養条件に適応した結果である可能性が考えられる。黄葉と落葉の時期が、冬芽形成との間に認められたほど分布緯度との相関が高くなかった原因は、土壤条件などの生育立地が樹種や産地系統ごとに異なり、葉から枝への転流の必要度がそれぞれ異なるために生じたのではないかと推測される。

3) 種子落下のフェノロジー

本州中部山岳地帯における、カラマツの分布境界線は、積雪深 50~100 cm の線とほぼ一致する (高橋, 1960) ため、同樹種は深雪の環境下には適応していない。他のカラマツ属樹種をみても、深雪地には分布が認められない。積雪が深い地域では、残雪が解けるまで稚樹が光合成をしにくいことが光要求度の高い同属樹種にとって致命的であり、枝が雪圧に耐えられないことも原因だと考えられる。

カラマツ属樹種の大部分は積雪前に落葉するが、種子の落下期は樹種によってさまざまだった。種子落下期は、種鱗開出角度など球果の形態的要因と樹脂量などの生理的要因とが重なって、多様なパターンを示した (2章3節)。ヨーロッパカラマツを除くほとんどの樹種では雪解け間近の3月までに大半の種子が落下した。同属樹種の種子は、低温湿層処理によって発芽促進される。ヨーロッパカラマツの種子は落下が遅く雪解け後になり、雪による低温湿層処理を受けにくい。このため、同樹種の種子には結実翌年に発芽するものだけでなく、別の年に発芽するものがあるのではないかと考えられる。このことは、種子豊作年の周期が6~7年である同属樹種にとって、更新において有効である可能性が考えられる。

一方、グイマツ千島系の種子は早い時期に一齐に落下した。積雪前に直接地表に落下すると、積雪期間中菌害を受けやすくなることが予想される。さらに、積雪前の種子落下は地表における小動物による食害を受けやすいものと考えられる。一方、鳥や小型ほ乳類による食害や、樹上の球果に留まることによる乾燥からは回避される。

種子の落下時期は、実生が定着するにあたっての重要なステージであり、分布の拡大に直接関係する。種子の落下時期だけでなく、種子サイズや散布距離なども分布拡大に関連するため、今後はこれらの測定を行うことで同属の分布拡大の解明につなげたい。

4) フェノロジー特性と分子系統

カラマツ属樹種で観察されたフェノロジー (2章) が分子系統 (3章) を反映したものであるかについて考察する。

北ユーラシアに分布するカラマツ属樹種は DNA 分析によって一つのクレードにまとまった (3章)。それらのフェノロジーをみると、ダフリアカラマツとカラマツは、高緯度の系統ほど冬芽形成が早く、ほぼ分布緯度に対応したフェノロジー特性を示した (木佐貫・倉橋, 1999)。一方、シベリアカラマツは、分布緯度に関係なく冬芽形成が早かった (木佐貫・倉橋, 1999)。ヨーロッパカラマツは、分布緯度が他樹種よりも比較的高い割に、冬芽形成や黄葉が遅かった (2章2節, 木佐貫・倉橋, 1999)。同樹種とポーランドカラマツとは非常に近縁であることが示された (3章) が、より高緯度に分布する後者の方が秋のフェノロジーは早かった (2章2節)。ヨーロッパカラマツは、種子落下期でも他樹種よりも非常に遅い傾向がみられた (2章3節)。このように、同樹種のフェノロジーは他樹種よりも顕著に遅い傾向がある。カラマツ属の分布拡大過程において、ヨーロッパに同属が到達したのは、同属の現分布地で最も遅いと推定される (LePAGE and BASINGER, 1991, 1995; SCHORN, 1994)。この推測によると、同樹種は属内で最も新しく分化した樹種なのかもしれない。このように、分子系統によって一つにまとまった北ユーラシアに分布するカラマツ属樹種は、樹種ごとに多様なフェノロジーパターンを示し (表-20)、特有の傾向は認められなかった。

北アメリカのカラマツ属は、DNA 分類によってユーラシアのとは異なるクレードに属した (3章)。アメリカカラマツは、分布緯度の高さの割に黄葉が遅かった (2章2節)。同樹種は霜害に強い葉をもち (倉橋, 1988)、高緯度に分布する割には黄葉が遅いことの一因になっている可能性がある。これは、同樹種が他樹種と異なる遺伝的背景をもつ (3章) ことが関係しているのかもしれない。

南ユーラシアの樹種トウカラマツは、他地域の樹種とはかなり異なる遺伝的組成をもつことが推測された (3章)。同樹種のフェノロジーをみると、黄葉が非常に遅く、黄葉前に葉が褐変枯死した (2章2節)。これは、同樹種は低緯度に分布するため、その限界日長時間が短いものと推定され、観察を行った東大北演では同樹種にとっては晩秋になっても黄葉しない日長条件下にあることが起因していると考えられる。葉が黄葉せずに褐変するため、東大北演に植栽された同樹種では、*N* などの転流率が低いことが推測される。東大北演において同樹種の成長速度が遅いこともこのことを表すものと考えられる。同樹種やヒマラヤカラマツの冬芽の耐凍性はカラマツ属で最も低い (酒井, 1982) が、このことから南ユーラシアの同属樹種が他地域とは異なる遺伝的組成をもつものと推測される。

このように、DNA 分類によって一つのクレードにまとまった樹種においても、フェノロジー

表-20 カラマツ属樹種の分布, 形態分類および他の形質とDNA分類との対応関係
Table 20. The relation among the distribution, morphological classification, phenological trait, and DNA consequences in the *Larix* species

樹種	分布	形態分類				フェノロジー				DNA			
		節	L&B	S	染色体	開花 開芽	黄葉 落葉	種子落下 開始	期間	ITS	RFLP	cpDNA	rbcL
シベリアカラマツ	NE	L	A	A	Ia	*	+	***	==	E	II	GGCCAC	Ic
ヨーロッパカラマツ	NE	L	A	A	Ib	**	++++	**	==	E	I	GACCGC	Id
ポーランドカラマツ	NE	L				**	+++	*	==		I	GACCGC	Id
ダフリアカラマツ	NE	L	A	A	Ib	**					I	GGCCGC	Ib
ホクシカラマツ	NE	L				**	+,++++	**	==		I	GGCCGC	Ib
チョウセンカラマツ	NE	L				**	+	**	==		I	GGCCGC	Ib
マンシュウカラマツ	NE	L				**	+	**	==		I	GGCCGC	Ib
グイマツ樺太系	NE	L				**	+	**	==		I	GGCCGC	Ib
グイマツ千島系	NE	L				*	++++	**	==		I	GGCCGC	Ib
カラマツ	NE	L	B	C	Ia	**	+++++	**	==	E	I	GGTCAC	Ia
トウカラマツ	SE	M	B	C	III	*	+++++	**	==	E	IV	GGCAGA	II
ヒマラヤカラマツ	SE	M	B	C									
シセンカラマツ	SE	M	B	C									
アメリカカラマツ	NA	L	A	A	II	*	+++++	**	==	A	III	AGTCAC	III
タカネカラマツ	NA	M	BC	B						A	III	AGTCGC	IV
セイブカラマツ	NA	M	BC	B	II					A	III	AGTCGC	IV

開芽・開芽および種子落下開始では, *の数が多いほどフェノロジーが早い,
黄葉・落葉では, +の数が多いほどフェノロジーが遅い,
種子落下期間では, =の数が多いほど期間が長い。

分布: NE; 北ユーラシア, SE; 南ユーラシア, NA; 北アメリカ
節: L: Sect. *Larix*, M: Sect. *Multiserialis* (FARJON, 1990)

L&B: 近縁種同士では文字が共通する (LEPAGE & BASINGER, 1991)

S: 近縁種同士では文字が共通する (SCHORN, 1994)

染色体: 染色体構造 (HIZUME *et al.*, 1993)

ITS: ITSによる区分 (GERNANDTA & LISTON, 1999)

RFLP: 3章1節

rbcL: 3章2節

RAPD: 3章3節

において分布緯度に応じた種内変異を示す樹種があれば、種内変異が少ないと推測される樹種があるなどさまざまだった。分布緯度とフェノロジーとの関係が特に希薄だったヨーロッパカラマツとアメリカカラマツは、互いに遺伝的に近縁ではなく、他の数多くの樹種では系統に関係なく分布緯度に応じたフェノロジーを示した。これらのことから、フェノロジー特性は、樹種分化の過程において獲得されたものではなく、樹種分化後に各樹種の分布の縮小と拡大の過程で、分布地の日長や気温などの条件に適応したものではないかと推測される。

3 節 形態分類と分子系統

カラマツ属において、cpDNA の RFLP では種間多型が少なかったこと (3 章 1 節) と、*rbcL* 遺伝子に塩基置換が少なかったこと (3 章 2 節) は、同属の cpDNA における種間多型が極めて少ないことを示している。このことは、同属では樹種間の遺伝的な分化が進んでいないことを示唆しており、樹種間で容易に雑種が形成されたり、形態に連続的な変異がみられる現象と一致する。

染色体構造は、生物の遺伝的な系統関係を調べるのに効果的であると考えられる。同属の染色体数はいずれの樹種も $n=12$ であり、その構造がクロモイシン (CMA) と DAPI を用いた蛍光分染法により観察されている (HIZUME *et al.*, 1993)。DAPI 染色された染色体のバンドパターンによって、同属は、シベリアカラマツ、カラマツ、ヨーロッパカラマツ、およびダフリアカラマツの一群 (I)、セイブカラマツとアメリカカラマツの一群 (II)、トウカラマツとその変種 *L. potaninii* var. *macrocarpa* の一群 (III) に分類された (HIZUME *et al.*, 1993)。さらに、CMA 染色された染色体上のバンドパターンによってこれら 3 群が亜群に分類された結果、シベリアカラマツおよびカラマツ (Ia) ならびにヨーロッパカラマツおよびダフリアカラマツ (Ib) とはそれぞれが一つの亜群に属した (HIZUME *et al.*, 1993)。染色体構造による同属の分類は、cpDNA の RFLP に基づく同属の DNA 分類 (3 章 1 節) と類似し、RAPD によるクラスター (3 章 3 節) とも非常に類似する (表-20)。したがって、本研究で得られた DNA 分析結果は、同属の遺伝的な類縁関係を的確に示すものと考えられる。

また、カラマツ属とトガサワラ属の数樹種について核リボソーム DNA の ITS (Internal transcribed spacer) 領域 (1,876 bps) の塩基配列解析が行われ、両属ともに系統樹の最も深い枝が、大陸に応じて北アメリカ大陸とユーラシアのクレードに分かれることが示された (GERNANDTA and LISTON, 1999)。

本研究および ITS 塩基配列の結果 (GERNANDTA and LISTON, 1999) に基づくカラマツ属樹種の類縁関係を以下に示す。

1) 北アメリカ大陸のカラマツ属樹種

北アメリカ大陸に分布するアメリカカラマツ、タカネカラマツ、セイブカラマツは、球果形態によって 2 節に分類される。また、LEPAGE and BASINGER (1995) は、地理分布と球果サイズからアメリカカラマツがダフリアカラマツに近い系統であるとし、後者が祖先型に近いもので、前者は第四紀更新世 (Pleistocene) の氷期にもたらされた新しい樹種であると考えた。しかし、北アメリカの 3 樹種間には cpDNA の制限サイトに多型が認められず、cpDNA による DNA 分類は表現型をもとにした節と一致しなかった (3 章 1 節, QIAN *et al.*, 1995)。また、*rbcL* 塩基配列においても北アメリカの 3 樹種に特異的な塩基置換が認められた (3 章 2 節)。さらに、核リボソ-

ム DNA の ITS 領域を対象とした PCR-RFLP 法の結果、ユーラシアのカラマツ属にない制限サイトが、北アメリカの 3 樹種に 3 カ所認められた (GERNANDTA and LISTON, 1999)。このように、北アメリカの 3 樹種は、ユーラシアのいずれの樹種よりも比較的近縁な関係にあることが推察される。

北アメリカ大陸において、アメリカカラマツは北方低地に、タカネカラマツとセイブカラマツは西岸の山岳地の斜面に分布する。現在、アメリカカラマツが広く分布する地域は、最終氷期には氷床に覆われていた地域に該当し、氷床後退後に同樹種が分布拡大したものである。これに対し、タカネカラマツとセイブカラマツが分布する大陸西岸のカスケード山脈における氷床の動態をみると、氷河期において氷床に覆われていたのは部分的だった (NILSSON, 1983)。このため、これら 2 樹種のカスケード山脈における成立年代は、アメリカカラマツの現分布における成立年代と比較して、非常に古いものであることが推測される。

セイブカラマツは山地帯上部から亜高山帯下部に分布し、カラマツ属のなかで最も大きいサイズに達する。一方、タカネカラマツは亜高山帯から高山帯にかけての森林限界などに生育する、サイズの小さい樹種である (FARJON, 1990)。両樹種の分布域には重複する地域があり、そこではしばしば雑種が認められ、その形態についての特徴が詳細に調べられている (CARLSON and THEROUX, 1993)。両樹種は、今回得られた分子情報から非常に近縁であることが示され、現在に至るまでに樹種間で交雑が行われてきたものと考えられる。

2) 北ユーラシアのカラマツ属樹種

ヨーロッパカラマツはシベリアカラマツと形態が類似しており、ポーランドカラマツを両樹種間の雑種とする説 (BOBROV, 1972) がある。ところが、cpDNA の制限サイトにはヨーロッパカラマツおよびポーランドカラマツとシベリアカラマツの間にはごくわずかではあるが差異が認められた (3 章 1 節)。また、ヨーロッパカラマツとポーランドカラマツの間には、*rbcL* の塩基配列に塩基置換が全く認められなかった (3 章 2 節)。さらに RAPD の結果から、ポーランドカラマツはヨーロッパカラマツと非常に近縁であるが、シベリアカラマツとは近縁でないことが示された (3 章 3 節)。

一方、カラマツ属の cpDNA の RFLP を調べた QIAN *et al.* (1995) は、シベリアカラマツがユーラシアの他樹種と大きく異なる系統であるとした。しかしこれは、同樹種とヨーロッパカラマツとが比較的近縁であるとするアイソザイムの結果 (LEWANDOWSKI, 1997) や、核リボソーム DNA の ITS 領域塩基配列 (GERNANDTA and LISTON, 1999) および RAPD (3 章 3 節) などの結果と一致しない。地理分布や球果形態などからみても、シベリアカラマツがヨーロッパカラマツやダフリアカラマツと遺伝的にかなり隔たったものだと考えにくい。

ダフリアカラマツおよびその変種の分類は、カラマツ属のなかでも困難を極める。これをもたらししているのは、球果形態の地域集団間変異が大きい (DYLIS, 1961) ことに加え、地域内での個体間変異が大きい (石, 1997) ことである。ほとんどの変種の分布は、ホクシカラマツおよびグイマツを除いてほぼ連続しており、各変種間で遺伝子流動が行われてきたものと推定される。cpDNA の RFLP (3 章 1 節) および *rbcL* 遺伝子の塩基配列 (3 章 2 節) において、ダフリアカラマツの変種間で多型が全く認められなかった。さらに RAPD の結果から、同変種間の遺伝距離には、他の樹種間でみられるような大きな値はみられず、各変種が遺伝的に近縁な群であることが示された (3 章 3 節)。これらの結果から、同樹種の変種間では、遺伝的分化が進んでいないか、

浸透交雑が最近まで行われてきたと推測される。

カラマツは、東アジアのカラマツ属樹種のなかで、独立した樹種とされる (FARJON, 1990)。それは、カラマツの分布が日本列島の本州山岳地帯に限られることや、球果当たりの種鱗数がダフリア系カラマツよりも多く、さらに、種鱗が外側に湾曲し、一年生枝が無毛であるなどの形態的特徴が、ダフリア系カラマツと異なるからである。一方、苞鱗の形態を基準にすると、カラマツは南ユーラシアのヒマラヤカラマツ、シセンカラマツ、トウカラマツなどと同じ節に分類される (SCHORN, 1994)。分子情報をみると、同樹種とダフリア系カラマツの間には *rbcL* 遺伝子に塩基置換が認められる (白石ら, 1996, 3章2節)。またカラマツは、ヨーロッパカラマツやダフリアカラマツと同じ cpDNA タイプを示し (3章1節)、ITS 領域の塩基配列から推定された系統において、シベリアカラマツと最も近縁だった (GERNANDTA and LISTON, 1999)。さらに RAPD の結果、カラマツはダフリアカラマツの変種と最も近縁だった (3章3節)。したがってカラマツは、朝鮮半島経由で日本列島に渡来した (3章3節)、ダフリアカラマツに近い系統であるものと考えられる。

3) 南ユーラシアのカラマツ属樹種

南ユーラシアのヒマラヤカラマツ、トウカラマツおよびシセンカラマツはいずれもナガミカラマツ節に属し、中国南部やヒマラヤ山脈北部の比較的狭い範囲に分布する。これら3樹種の採集は困難なこともあり、DNA 分類学的な研究は断片的なものしかみられない。本研究や cpDNA の RFLP を調べた QIAN *et al.* (1995) では、トウカラマツのみが供試材料に含まれ、核 DNA の ITS 塩基配列解析では、ヒマラヤカラマツのみが含まれた (GERNANDTA and LISTON, 1999)。シセンカラマツについてはいずれの報告においても材料に含まれず、その遺伝的位置づけは不明である。

トウカラマツの cpDNA には他樹種と異なる制限サイトがあることから、他樹種と異なる遺伝的組成をもつものと考えられた (3章1節)。一方、QIAN *et al.* (1995) によると、同樹種は北ユーラシアのクレードに位置づけられた。しかし、*rbcL* 遺伝子の塩基配列をみると、同樹種は北ユーラシアの樹種との間に塩基置換がいくつか認められたため (3章2節)、北ユーラシアクレードに属するのは整合性がない。QIAN *et al.* (1995) はトウカラマツの材料をシベリアカラマツと間違えた可能性がある。

ヒマラヤカラマツについてみると、ITS 領域塩基配列に基づく系統樹によって、北ユーラシアの樹種と同じ系統であるとされた (GERNANDTA and LISTON, 1999)。しかし、同樹種には北ユーラシアに分布する樹種には認められない核リボソーム ITS 上の制限サイトが認められ (GERNANDTA and LISTON, 1999)、北ユーラシアの樹種から系統的に最も離れていることも示された。

これらの DNA 分析によって得られた結果に共通しているのは、トウカラマツおよびヒマラヤカラマツが、同じくナガミカラマツ節に分類される北アメリカのタカネカラマツおよびセイブカラマツと近縁関係にないことを示した点である。また、cpDNA の *rbcL* 遺伝子塩基配列をみても、トウカラマツには独自の塩基置換が2カ所認められ (3章2節)、同樹種は他樹種からの分岐年代が比較的古いことが示された。さらに、RAPD の結果、トウカラマツは供試材料のなかで最も類似度が低い樹種だった (3章3節)。これらの結果から、南ユーラシアの樹種は、カラマツ属のなかでも遺伝的組成がかなり異なることが推測される。

4) カラマツ属の分布と系統

最も古いカラマツ属の化石は、北アメリカ大陸北部のアクセルハイバーク島から発掘された第三紀始新世 (Eocene) のものである (LEPAGE and BASINGER, 1991)。第三紀におけるアラスカでは北方熱帯林が存在し、かなり温暖な気候だったと考えられる (TIFFNEY, 1985)。始新世のアラスカは熱帯気候下にあり、亜寒帯性針葉樹の出現がみられるのは中新世 (Miocene) 後期になってからである (WOLFE, 1972)。LEPAGE and BASINGER (1991, 1995) は、第三紀中期、針葉樹の植生が周北極の高緯度地域に広がり、漸新世 (Oligocene) になって北アメリカ大陸からシベリアに向けてカラマツ属の分布が拡大したと推測した。

現在、ベーリング海峡によって隔離されている北アメリカとユーラシアは、始新世早期につながっていた。両大陸は、始新世中期に離れたが、同後期には再びつながったと考えられる (YURTSEV, 1972)。数多くの植物がアジアと北アメリカに共通しており、この類似性は第三紀早期のベーリング陸橋を通してもたらされたと考えられる (TIFFNEY, 1985)。実際、この陸橋を通してシベリアからアメリカに向けて生物が移動したことが、数多くの生物種について確認されている (YURTSEV, 1972)。

カラマツ属は周極的に広く分布する。この広大な分布範囲は、大陸の移動と分断などの出来事によってもたらされたと考えられた (LEPAGE and BASINGER, 1991)。特に断片的であるナガミカラマツ節の分布は、ローラシア大陸の解体と極氷床の拡大に伴って形成されたものであると考えられた (SCHORN, 1994)。また、苞鱗の短いタイプが北アメリカとユーラシアの双方に分布するのは、更新世の氷河作用によってもたらされた分断分布であろうと推定された (LEPAGE and BASINGER, 1995)。これらの推定は、いずれも球果形態に基づく系統分類に依拠する。一方、cpDNA の RFLP (3 章 1 節, QIAN *et al.*, 1995) と ITS (GERNANDTA and LISTON, 1999) の結果によるカラマツ属の系統分類によって、形態に基づいて 2 節に分類される北アメリカの 3 樹種が一つのクラスターにまとまった。このため、カラマツ属の 2 節の樹種が、それぞれユーラシアと北アメリカの両大陸に分布することを、大陸移動や氷河の拡大・縮小などによる分断分布として説明することには必然性がない。

カラマツ属の起源は、最古の化石球果の出土地に基づいて、第三紀前半の北アメリカに求められた (LEPAGE and BASINGER, 1991; 1995)。DNA 分析の結果、仮にトウカラマツが北ユーラシアのクレードに属していたら、そう結論することができたであろう。しかし実際は、同属は分布地域に応じて、北アメリカ、北ユーラシア、南ユーラシアの 3 つに DNA 分類され (図-21)、このなかのいずれが祖先型に近いのかは断定できない。さらに、分子情報や染色体構造に基づく分類から、ユーラシアに分布するカラマツ属の北部クレードと南部クレードが、最終氷期に接していたと考えるのは困難である。

ユーラシアにおける古植生の変遷をみると、ロシアにおいて現植生が成立したのは、鮮新世 (Pliocene) 後期から 更新世 (Pleistocene) 早期にかけてであると考えられる (YURTSEV, 1972)。現在、広範囲に分布するカラマツ属 3 樹種の分布地の多くは、約 2 万年前の最終氷期において氷床が広く覆っていたと推測される地域である。氷床が南下したときは、ほとんどの植物は北緯 40 度～50 度まで南下せざるを得なかったであろう。その後の温暖化に伴い、氷床の後退跡地および永久凍土が生じ、そこにおける寒冷乾燥地に適応したカラマツ属が分布を拡大したのと考えられる。このため、周北極に分布の中心をもつ植物の起源や系統については、現在の分布の広さだ

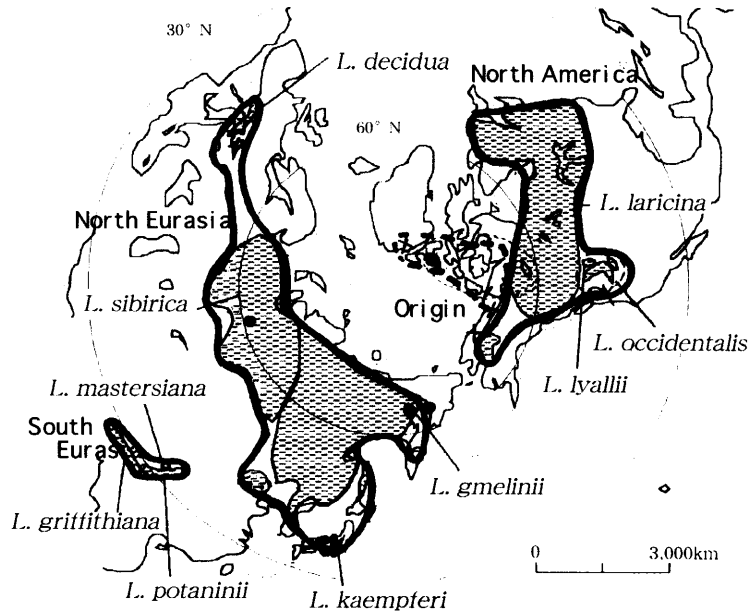


図-21 カラマツ属樹種の地理分布と系統

Fig. 21. The geographic distribution and the phylogeny for the genus *Larix*.

Wide line surround the genetically close species while broken line show the putative origin of the genus *Larix* based on the fossil evidence. ●, the point of fossil sediment in the Paleogene (LEPAGE and BASINGER, 1995).

けでは判断できないと考えられる。現生種の分布が遺存的であるナガミカラマツ節の樹種が同属の祖先に近いとする推定 (FARJON, 1990) は、カラマツ節の起源が第三紀に遡る地史的事実と分子系統からも支持されない。同属の起源は、分子系統と地理分布から考えて、南ユーラシアと北アメリカのどちらかであると推測される。現時点では、周北極の樹林限界からヒマラヤ山脈までの広範な地域に分布するカラマツ属の起源は、LEPAGE and BASINGER (1995) が化石記録をもとに主張した、第三紀前半の古い時期であったのではないかと考えられる。

広範な分布を示すシベリアカラマツ、ダフリアカラマツ、アメリカカラマツの遺伝的な多様性を調査することで、最終氷期後の分布拡大過程の解明につながるものと考えられる。カラマツ属の起源の解明には、狭い範囲に遺存的分布を呈する南ユーラシアの樹種について遺伝的多様性を測定し、前者3樹種の遺伝的多様性と比較することが必要である。

カラマツ属樹種は、寒冷乾燥地域に適応した樹種であるため、地球温暖化に伴い分布がさらに北上することが予測される。温暖化との関連は不明だが、日本では北限カラマツの個体数が減少し、後継樹もほとんどないため、その消滅が危惧される。地球規模の気候変動に対する植物の分布変遷を予測するためには、過去における分布の拡大・縮小の過程を究明することが肝要であると考えられる。

謝 辞

本研究をまとめるにあたり、東京大学大学院農学生命科学研究科鈴木和夫教授には、研究中終

始ご指導と激励をいただいた。同農学部濱谷稔夫元教授からは研究を始めるに先立ち、カラマツ属の研究の現状をご教示いただいた。立正大学渡辺定元教授および東京大学農学部附属演習林井出雄二教授からは、分子生物学的手法を始める動機とご支援をいただき、さまざまなご指導を賜った。東京大学大学院農学生命科学研究科八木久義教授ならびに古田公人教授からは本論文をまとめるうえで、貴重なご意見とご指導を賜った。

京都大学理学部河野昭一元教授には研究に関するさまざまな刺激とご支援をいただいた。同寺内良平博士、同加藤英寿博士（現：東京都立大学大学院自然史科学講座）、同加藤（中村）朗子氏からは、分子生物学の実験についての指導をいただいた。

九州大学農学部白石 進助教授からは、DNA 分析に関するご指導を賜り、実験設備の使用をさせていただいた。同渡辺敦史博士、磯田圭也博士、榎崎浩司氏には実験に対する補助と助言をいただいた。

ポーランド科学アカデミー樹木学研究所 Andrzej LEWANDOWSKI 博士および北海道大学酒井昭名誉教授には、カラマツ属に関する文献および情報をいただいた。

森林総合研究所津村義彦博士からはスギの葉緑体 DNA ライブラリーをいただいた。また、中華人民共和国東北林業大学石 福臣教授からは共同研究を行ううえで、同国中国科学院瀋陽生態研究所張 頌雲教授および遼寧省林業種苗管理総站副站長賈 斌氏からは相互交換としてカラマツ属の材料をいただいた。森林総合研究所森 茂太博士からはロシア産カラマツ属樹種の材料をいただいた。

東京大学農学部附属演習林北海道演習林林長梶 幹男教授には本論文の校閲を賜り、特に生態学分野における指摘を賜った。同北海道演習林元林長山本博一教授（現：同千葉演習林林長）には、研究上のさまざまな便宜を図っていただいた。同北海道演習林倉橋昭夫元講師からは、カラマツ属樹種に関する数多くの知見とご助言を賜った。同北海道演習林木村徳志技術官には、材料採集に関して協力いただいた。同北海道演習林小笠原繁男技術専門官には、育苗をお願いした。本研究で用いた材料の数多くは、同北海道演習林の樹木園および見本林に植栽されているものであり、それらの収集と維持にあたっては、数多くの演習林職員に負うところが大きい。

これらの方々から感謝の意を表したい。

要 旨

カラマツ属 (*Larix*) は、マツ科で分類が最も困難な属のひとつである。同属は、球果形態によって 10~16 種に分類される。これらの樹種は、種鱗よりも苞鱗が短いカラマツ節と苞鱗の方が長いナガミカラマツ節に分類される。球果形態に種内変異が大きい樹種があり、分類の困難さをもたらしている。同属には種間雑種が容易に形成される特性があり、比較的新しい属であると推定された。一方、第三紀始新世中期の化石球果の発掘により、同属は比較的古い属であることが判明した。今回、生態的特性と分子情報をもとにカラマツ属の系統を解明した。

カラマツ属の生態的特性を解明するために、フェノロジー調査を行った。同属の分布範囲は非常に広く、フェノロジー特性には顕著な樹種間差が予測される。しかし、開芽・開花時期における樹種間差は僅少であり、春の積算気温に対する反応が樹種間ではほぼ一律であると考えられる。一方、黄葉・落葉時期における樹種間差は顕著に認められ、分布緯度との関連性が推測される。種子落下時期における樹種間差もまた顕著に認められたが、黄葉・落葉時期とは無関係だった。

種子落下時期には、球果における種鱗の開出角度や樹脂量が影響すると考えられる。

カラマツ属の系統を解明するために、8 樹種 4 変種 14 系統について、cpDNA の制限酵素断片長多型 RFLP の探索、cpDNA の *rbcL* 塩基配列の解読、および RAPD 分析を行った。cpDNA の RFLP では、種間多型は非常に少なかった。また、*rbcL* における塩基置換サイトは、1,309 塩基中 6 カ所だけだった。同属の cpDNA における種間多型は極めて少ないことが示された。111 本の RAPD マーカーを用いて樹種間の遺伝距離を求め、クラスター分析を行った。近くに分布する樹種同士は近縁関係にあった。それらには、ヨーロッパカラマツとポーランドカラマツ、ならびにセイブカラマツとタカネカラマツが含まれた。北アメリカに分布するアメリカカラマツ、タカネカラマツ、セイブカラマツは 2 節に分類される。しかし、これら 3 樹種には cpDNA の RFLP で多型がなく、*rbcL* において共通の塩基置換があった。北アメリカの樹種はユーラシアの樹種と離れた関係にあった。北アメリカの樹種はユーラシアの樹種と分化した後、現在の 3 樹種に分化したと推測される。北ユーラシアに分布するカラマツ節のヨーロッパカラマツ、シベリアカラマツ、ダフリアカラマツ、カラマツは、一群にまとまった。ダフリアカラマツの変種間では cpDNA 多型が認められず、RAPD の結果からも互いに遺伝的に近縁であることが示された。変種のほとんどは遺伝的分化が進んでいないか、浸透交雑が最近まで行われてきたことが推察される。カラマツはダフリアカラマツの変種チョウセンカラマツと最も近縁であり、朝鮮半島経由で日本に渡来したものと推測される。南ユーラシアに分布するトウカラマツの cpDNA タイプは他地域の樹種と異なった。同樹種はカラマツ属のなかで最も遺伝的に離れていた。同樹種は他地域に分布する樹種との分岐年代が現生種で最も古いものと考えられる。

cpDNA の RFLP と RAPD の結果、カラマツ属は、地理分布と一致する北アメリカ、北ユーラシア、南ユーラシアの三つのクレードをもつと推測された。これらの結果は形態分類と若干異なったが、染色体の特徴に基づく分類とよく一致した。その三クレードのいずれがカラマツ属の祖先に近いかは、今回得られた分子情報からは不明である。同属は化石記録から第三紀前半に起源があると推定されているが、分子情報から得られた樹種間の分化の程度は比較的小さかった。樹種間差の認められたフェノロジーは分子系統を反映しておらず、現生種のフェノロジーは種分化後に生育地の環境に適応して形成されたものと考えられる。同属樹種は、比較的新しい共通祖先種から分化したものであり、近隣に分布する樹種間では、氷期と温暖期の度重なる到来に応じてその分布の縮小と拡大が繰り返され、交雑が行われてきたものと考えられる。

キーワード：カラマツ属，分類，フェノロジー，DNA 分析，系統

引用文献

- ABAIMOV, A. P. (1995) The larches of Siberian permafrost zone and their species peculiarities in progressive successions. In MARTINSSON, O. edited, Proc. IUFRO (S2.02-07) Larch genetics and breeding, pp. 11-15, Swedish Univ. of Agric. Sci. Dep. of Silvicult. Reports, No. 39.
- ABO-ELWAFI, A., MURAI, K., and SHIMADA, T. (1995) Intra- and inter-specific variations in *Lens* revealed by RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, **90**: 335-340.
- ALI, I. F., NEALE, D. B., and MARASHALL, K. A. (1991) Chloroplast DNA restriction fragment length polymorphism in *Sequoia sempervirens* D. DON ENDL., *Pseudotsuga menziesii* (MIRB.) FRANCO, *Calocedrus decurrens* (TORR.), and *Pinus taeda* L. *Theor. Appl. Genet.*, **81**: 83-89.
- AL-MUFTI, M. M., SYDES, C. L., FURNESS, S. B., GRIME, J. P., and BAND, S. R. (1977) A quantitative analysis

- of shoot phenology and dominance in herbaceous vegetation. *J. Ecol.*, **65**: 759–791.
- ANGEVINE, M. and CHABOT, B. (1979) Seed germination syndromes in higher plants. *In* SOLBRIG, O., JAIN, S., JOHNSON, G., and RAVEN, P. edited, *Topics in plant population biology*, pp.188–206, Columbia Univ. Press, New York.
- ARNO, S. F. and FISCHER, W. C. (1995) *Larix occidentalis*—fire ecology and fire management. *In* SCHMIDT, W. C. and McDONALD, K. J. [compilers], *Ecology and management of Larix forests: a look ahead*, pp. 130–135. USDA Forest Service, Intermountain Research Station, Ogden, Utah, General Technical Report GTR-INT-319.
- ARNOLD, M. L. (1992) Natural hybridization as an evolutionary process. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **23**: 237–261.
- 浅田節夫・佐藤大七郎 (1981) カラマツ造林学. 289 pp, 農林出版, 東京.
- ATCHISON, B. A., WHITEFELD, P. R., and BOTTMLEY, W. (1976) Comparison of chloroplast DNAs by specific fragmentation with *EcoRI* endonuclease. *Mol. Gen. Genet.*, **148**: 263–269.
- AUGSPURGER, C. K. (1986) Morphology and dispersal potential of wind-dispersed diaspores of neotropical trees. *Am. J. Bot.*, **73**: 353–363.
- AXELROD, D. I. (1990) Environment of the Middle Eocene (45 Ma) Thunder Mountain flora, central Idaho. *Natl. Geogr. Res.*, **6**: 355–361.
- BALDWIN, B. G., SANDERSON, M. J., PORTER, J. M., WOJCIECHOWSKI, M. F., CAMPBELL, C. S., and DONOGHUE, M. J. (1995) The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann. Missouri Bot. Gard.* **82**: 247–277.
- BARNES, B. V., ZAK, D. R., DENTON, S. R., and SPURR, S. H. (1998) *Forest ecology* (4th ed.). 774 pp., John Wiley & Sons, Inc., New York.
- BENKMAN, C. W. (1995) Wind dispersal capacity of pine seeds and the evolution of different seed dispersal modes in pines. *Oikos*, **73**: 221–224.
- BERG, E. E. and CHAPIN, F. S., III. (1994) Needle loss as a mechanism of winter drought avoidance in boreal conifers. *Can. J. For. Res.*, **24**: 1114–1148.
- BIGRAS, F. J. and Aoust, L. D. (1993) Influence of photoperiod on shoot and root frost tolerance and bud phenology of white spruce seedlings (*Picea glauca*). *Can. J. For. Res.*, **23**: 219–228.
- BINELLI, G. and BUCCI, G. (1994) A genetic linkage map of *Picea abies* KARST., based on RAPD markers, as a tool in population genetics. *Theor. Appl. Genet.*, **88**: 283–288.
- BLUM, B. M. (1988) Variation in the phenology of bud flushing in white and red spruce. *Can. J. For. Res.*, **18**: 315–319.
- BOBROV, E. G. (1972) History and systematics of larches. *Komarovskie Ctenija*, **25**: 1–96.
- BOUSQUET, J., STRAUSS, S. H., and LI, P. (1992a) Complete congruence between morphological and *rbcL*-based molecular phylogenies in birches and related species (Betulaceae). *Mol. Biol. Evol.*, **9**: 1076–1088.
- BOUSQUET, J., STRAUSS, S. H., DOERKSEN, A. H., and PRICE, R. A. (1992b) Extensive variation in evolutionary rate of *rbcL* gene sequences among seed plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **89**: 7844–7848.
- BROWN, K. R., ZOBEL, D. B., and ZASADA, J. C. (1988) Seed dispersal, seedling emergence, and early survival of *Larix laricina* (DuRoi) K. KOCH in the Tanana Valley, Alaska. *Can. J. For. Res.*, **18**: 306–314.
- BUCCI, G. and MENOZZI, P. (1995) Genetic variation of RAPD markers in a *Picea abies* KARST. population. *Heredity*, **75**: 188–197.
- CAMPBELL, R. K. and SUGANO, A. I. (1979) Genecology of bud-burst phenology in Douglas-fir: response to flushing temperature and chilling. *Bot. Gaz.*, **140**: 223–231.
- CARLSON, C. E. and THEROUX, L. E. (1993) Cone and seed morphology of western larch (*Larix occidentalis*), alpine larch (*L. lyallii*), and their hybrids. *Can. J. For. Res.*, **23**: 1264–1269.
- CARLSON, J. E., TULSIERAM, L. K., GLAUBITZ, J. C., LUK, V. W. K., KAUFFELDT, C., and RUTLEDGE, R. (1991) Segregation of random amplified DNA markers in F₁ progeny of conifers. *Theor. Appl. Genet.*, **83**: 194–200.
- CARSWELL, C. L. and MORGENSTERN, E. K. (1995) Phenology and growth of nine larch species and hybrids tested in New Brunswick, Canada. *In* SCHMIDT, W. C. and McDONALD, K. J. [compilers], *Ecology and management of Larix forests: a look ahead*, pp. 318–322. USDA Forest Service,

- Intermountain Research Station, Ogden, Utah, General Technical Report GTR-INT-319.
- CHAPIN, F. S., III. and KEDROWSKI, R. A. (1983) Habitat and leaf habit as determinants of growth, nutrient absorption, and nutrient use by Alaskan taiga forest species. *Can. J. For. Res.*, **13**: 818-826.
- CHAPIN, F. S., III. and TYRON, P. R. (1983) Seasonal changes in nitrogen and phosphorus fractions and autumn retranslocation in evergreen and deciduous taiga trees. *Ecology*, **64**: 376-391.
- CHASE, M. W., SOLTIS, D. E., OLMSTEAD, R. G., MORGAN, D., LES, D. H., MISHLER, B. D., DUVALL, M. R., PRICE, R. A., HILLS, H. G., QIU, Y.-L., KRON, K. A., RETTIG, J. H., CONTI, E., PALMER, J. D., MANHART, J. R., SYTSMA, K. J., MICHAELS, H. J., KRESS, W. J., KAROL, K. G., CLARK, W. D., HEDROEN, M., GAUT, B. S., JANSEN, R. K., KIM, K.-J., WIMPEE, C. F., SMITH, J. F., FURNIER, G. R., STRAUSS, S. H., XIANG, Q.-Y., PLUNKETT, G. M., SOLTIS, P. S., SWENSEN, S., WILLIAMS, S. E., GADEK, P. A., QUINN, C. J., EGUIARTE, L. E., GOLENBERG, E., LEARN, G. H. JR., GRAHAM, S. W., BARRETT, S. C., DAYANADEN, S., and ALBERT, V. A. (1993) DNA sequence phylogenetics of seed plants: an analysis of the plastid gene *rbcl*. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, **80**: 528-580.
- CHAW, S.-M., ZHARKIKH, A., SUNG, H.-M., LAU, T.-C., and LI, W.-H. (1997) Molecular phylogeny of extant gymnosperms and seed plant evolution: analysis of nuclear 18S rRNA sequences. *Mol. Bio. Evol.*, **14**: 56-68.
- CHENG, F. S., WEEDEN, N. F., and BROWN, S. K. (1996) Identification of co-dominant RAPD markers tightly linked to fruit skin color in apple. *Theor. Appl. Genet.*, **93**: 222-227.
- CHRISTIANSEN, H. (1972) On the development of pollen and the fertilization mechanisms of *Larix* and *Pseudotsuga menziesii*. *Silvae Genetica*, **21**: 166-174.
- CLARK, A. G. and LANIGAN, C. M. S. (1993) Prospects for estimating nucleotide divergence with RAPDs. *Mol. Biol. Evol.*, **10**: 1096-1111.
- CLEGG, M. T., BROWN, A. H. D., and WHITFIELD, P. R. (1984) Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated barley: implication for genetic conservation. *Genet. Res.*, **43**: 339-343.
- CURTIS, S. E. and CLEGG, M. T. (1984) Molecular evolution of chloroplast DNA sequences. *Mol. Biol. Evol.*, **1**: 291-301.
- DAVIS, T. M., YU, H., HAIGIS, K. M., and MCGOWAN, P. J. (1995) Template mixing: a method of enhancing detection and interpretation of codominant RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, **91**: 582-588.
- DENSMORE, R. and ZASADA, J. (1983) Seed dispersal and dormancy patterns in northern willows: ecological and evolutionary significance. *Can. J. Bot.*, **61**: 3207-3216.
- DUBUISSON, J. (1997) *rbcl* sequences: a promising tool for the molecular systematics of the fern genus *Trichomanes* (Hymenophyllaceae)? *Mol. Phylogenet. Evol.*, **8**: 128-138.
- DUNCAN, D. P. (1954) A study of some of the factors affecting the natural regeneration of tamarack (*Larix laricina*) in Minnesota. *Ecology*, **35**: 498-521.
- DYLIS, N. V. (1961) *Larix* of Eastern Siberia and the Far East. 203 pp., Acad. Sci. USSR (in Russian).
- FARJON, A. (1990) Pinaceae. 330 pp., Koeltz Scientific Books, Königstein, Germany.
- FLORIN, R. (1963) The distribution of conifer and taxad genera in time and space. *Acta Horti Bergiani*, **20**(4): 121-312.
- FRANKIS, M. P. (1989) Genetic inter-relationships in Pinaceae. *Notes Royal Bot. Gard., Edinburgh*, **45**(3): 527-548.
- FRASCARIA, N., MAGGIA, L., MICHAUD, M., and BOUSQUET, J. (1993) The *rbcl* gene sequence from chestnut indicates a slow rate of evolution in the Fagaceae. *Genome*, **36**: 668-671.
- GERNANDTA, D. S. and LISTON, A. (1999) Internal transcribed spacer region evolution in *Larix* and *Pseudotsuga* (Pinaceae). *Am. J. Bot.*, **86**: 711-723.
- GIELLY, L. and TABERLET, P. (1994) The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus *rbcl* sequences. *Mol. Biol. Evol.*, **11**: 769-777.
- GOVINDARAJU, D. R., DANCİK, B. P., and WAGNER, D. B. (1989) Novel chloroplast DNA polymorphism in a sympatric region of two pines. *J. Evol. Biol.*, **2**: 49-59.
- GOVINDARAJU, D. R., WAGNER, D. B., SMITH, G. P., and DANCİK, B. P. (1988) Chloroplast DNA variation within individuals of a *Pinus banksiana*-*Pinus contorta* sympatric region. *Can. J. For. Res.*, **18**: 1347-1350.
- GRAHAM, J. and McNICOL, R. J. (1995) An examination of the ability of RAPD markers to determine the

relationships within and between *Rubus* species. *Theor. Appl. Genet.*, **90**: 1128–1132.

- GREENE, D. F. and JOHNSON, E. A. (1989) A model of wind dispersal of winged or plumed seeds. *Ecology*, **70**: 339–347.
- GREENE, D. F. and JOHNSON, E. A. (1992) Fruit abscission in *Acer saccharinum* with reference to seed dispersal. *Can. J. Bot.*, **70**: 2277–2283.
- GREENE, D. F. and JOHNSON, E. A. (1997) Secondary dispersal of tree seeds on snow. *J. Ecol.*, **85**: 329–340.
- GROWER, S. T. and RICHARDS, J. H. (1990) Larches: Deciduous conifers in an evergreen world. *Biosci.*, **40**: 818–826.
- HALLDEN, C. *et al.* (1996) Competition as a source of errors in RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.*, **93**: 1185–1192.
- 濱谷稔夫 (1995) カラマツの分類と特性. 林木の育種, **175**: 4–8.
- HAMAYA, T., KURAHASHI, A., SASAKI, C. and TAKAHASHI, Y. (1974) Phenological investigations on external morphological development and growth of Japanese larch strobili and cones—Fundamental studies for crossing of larches I—. *Bull. Tokyo Univ. For.*, **66**: 223–237.
- HAMAYA, T., KURAHASHI, A., TAKAHASHI, N., and SAKAI, A. (1968) Studies in frost hardiness of the Japanese and Dahurian larch and their hybrids. *Bull. Tokyo Univ. For.*, **64**: 197–239.
- HART, J. A. (1987) A cladistic analysis of conifers: preliminary results. *J. Arno. Arbor.*, **68**: 269–307.
- 畠山末吉 (1995) カラマツの採種時期がタネの収量と品質に及ぼす影響. 北海道の林木育種, **38**(1): 16–19.
- 林 弥栄 (1960) 日本産針葉樹の分類と分布. 202 pp., 農林出版, 東京.
- HIZUME, M., TOMINAGA, H. H., KONDO, K., GU, Z., and YUE, Z. (1993) Fluorescent chromosome bandings in six taxa of Eurasian *Larix*, Pinaceae. *Kromosomo II*, **69**: 2342–2354.
- HOWE, H. F. and SMALLWOOD, J. (1982) Ecology of seed dispersal. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **13**: 201–228.
- HUFF, D. R., PEAKALL, R., and SMOUSE, P. E. (1993) RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss [*Buchloe dactyloides* (NUTT.) ENGELM.]. *Theor. Appl. Genet.*, **86**: 927–934.
- IGARASHI, Y. (1993) History of environmental change in Hokkaido from the viewpoint of palynological research. *In* HIGASHI, S., Osawa, S., and KANAZAWA, K. edited, *Biodiversity and ecology in the Northernmost Japan*, pp. 1–19, Hokkaido Univ. Press, Sapporo.
- IGARASHI, Y. (1997) Vegetation and climate history in the circum Okhotsk region since the Lastglacial Maximum. *In* Cryspheric studies in Kamchatka I, pp. 29–37, *Inst. Low Temp. Sci.*, Hokkaido Univ. Sapporo.
- 犬飼哲夫・芳賀良一 (1953) 野鼠のカラマツ属に対する嗜好の実験生態学的研究. 北大農紀要, **1**(3): 281–300.
- 入江 潔・本間航介・増沢 直・箕口秀夫・島野光司 (1998) 積雪量の異なるブナ林における野ネズミ個体群動態とブナ種子捕食量の推定. 植物地理・分類研究, **46**: 37–46.
- 入倉清次・広川俊英・柴田 前 (1979) 東大北海道演習林における森林植生の垂直分布 (I)—一種の分布パターンと植生の帯状構造について—. 日林論, **90**: 329–330.
- ISHIHARA, K. and MATSUKAWA, T. (1939) Forstlihen Pflanzenzuchtung. I. Bastardierungsuche bei einem Arten von Koniferen. *Trans. Meet. Jpn. For. Soc.*, 98–102.
- 石原供三・松川篤治 (1940) 主要林木の品種改良 (第 1 報) 球果植物二三の交雑試験. 昭和 14 年度日林講, 98–102.
- 石原供三・松川篤治 (1941) 主要林木の品種改良 (第 2 報) 第 1 代雑種に顕れたる形質に就いて. 昭和 15 年度日林講, 126–131.
- JACKSON, D. P., HAYDEN, J. D., and QUIRKE, P. (1991) Extraction of nucleic acid from fresh and archival material. *In* McPHERSON, M. J., QUIRKE, P., and TAYLOR, G. R. edited, *PCR. A practical approach*, pp. 29–50, Oxford Univ. Press, New York.
- 金子富吉 (1976) カラマツ球果の採取時期. 林木の育種, **96**: 4–6.
- KAPINSKA, B. and KAPINSKI, S. (1993) The chloroplast genome of *Pinus sylvestris*; physical map and localization of chloroplast genes. *Can. J. For. Res.*, **23**: 234–238.
- KARL, S. A. and AVISE, J. C. (1993) PCR-based assays of Mendelian polymorphisms from anonymous single-copy nuclear DNA: Techniques and applications for population genetics. *Mol. Bio. Evol.*, **10**: 342–361.
- 加藤亮助 (1952) 北海道演習林の森林植生. 東大演報, **43**: 1–18.
- 河野耕蔵 (1998) 中国湖北省における林木育種プロジェクトの現状. 北海道の林木育種, **41**(2): 38–44.

- KENNARD, W. C., POETTER, K., DIJKHUIZEN, A., MEGLIC, V., STAUB, J. E., and HAVEY, M. J. (1994) Linkage among RFLP, RAPD, isozyme, disease-resistance, and morphological markers in narrow and wide crosses of cucumber. *Theor. Appl. Genet.*, **89**: 42-48.
- KHASA, P. D. and DANCIC, B. P. (1996) Rapid identification of white-Engelmann spruce species by RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, **92**: 46-52.
- KIKUZAWA, K. (1983) Leaf survival of woody plants in deciduous broad-leaved forests. 1. Tall trees. *Can. J. Bot.*, **61**: 2133-2139.
- KIKUZAWA, K. and KUDO, G. (1995) Effects of the length of the snow-free period on leaf longevity in alpine shrubs: a cost-benefit model. *Oikos*, **73**: 214-220.
- 木佐貫博光・倉橋昭夫 (1995) カラマツ属フェノロジーの種および産地による変異. *日林論*, **106**: 363-366.
- 木佐貫博光・倉橋昭夫 (1999) 産地の緯度がカラマツ属樹種の実性苗の分枝性, 成長, フェノロジー特性に及ぼす影響. *東大演報*, **102**: 93-102.
- 木佐貫博光・木村徳志・倉橋昭夫 (1994) カラマツとグイマツの雑種 F₁ の一年生枝の有毛性と枝色の遺伝. *日林論*, **105**: 329-330.
- KISANUKI, H., KURAHASHI, A., and TAKAHASHI, Y. (1995) Growth responses of *Larix* hybrid between *L. kaempferi* and *L. gmelinii* var. *japonica* with altitudinal gradient. In MARTINSSON, O. edited, Proc. IUFRO (S2.02-07) Larch genetics and breeding, pp. 127-134, Swedish Univ. of Agricult. Sci. Dep. of Silvicult. Reports, No. 39.
- KISANUKI, H., KURAHASHI, A., KATO, H., TERAUCHI, R., KAWANO, S., IDE, Y., and WATANABE, S. (1995) Interspecific relationship of the genus *Larix* inferred from the RFLPs of chloroplast DNA. *J. Jpn. For. Soc.*, **77**: 83-85.
- 北村二郎・村田 源 (1979) 原色日本植物図鑑 木本編 (2). 545 pp., 保育社.
- 小早川 進 (1944) 日長が林木の營養生長に及ぼす影響に就て (第I報). *東大演報*, **34**: 83-120.
- KOLB, T. E. and TEULON, D. A. (1991) Relationship between sugar maple budburst phenology and pear thrips damage. *Can. J. For. Res.*, **21**: 1043-1048.
- KOMAROV, V. L. (1934) *Larix*. Fl. URSS, **1**: 153-159.
- 小山浩正 (1998) 種子異型性と発芽時期—メカニズムと適応的意義—. *日生態会誌*, **48**: 129-142.
- KRÜSSMANN, G. (1985) Manual of cultivated conifers. 361 pp., Batsford (London).
- 久保田泰則・川口 優・近久明男 (1967) ダフリカ系カラマツの育種 (I) 北海道民有林に存在するダフリカ系カラマツの現況と育種の特徴. *日林講*, **78**: 160-161.
- 倉橋昭夫 (1988) カラマツ属の交雑育種に関する研究. *東大演報*, **79**: 1-94.
- 倉橋昭夫 (1993) 北海道中部におけるカラマツ産地試験 31 年間の結果. *林木の育種*, **168**: 14-16.
- 倉橋昭夫・濱谷稔夫 (1981) トドマツの垂直分布に伴う変異. *東大演報*, **71**: 101-151.
- 倉橋昭夫・佐々木忠兵衛・濱谷稔夫 (1966) 開花期と積算温度. 北海道の林木育種, **9**(2): 20-27.
- 倉橋昭夫・高橋延清・濱谷稔夫 (1970) カラマツ類晩霜害の一事例. *日林誌*, **52**: 17-21.
- 倉橋昭夫・佐々木忠兵衛・小笠原繁男・濱谷稔夫 (1982) グイマツ・カラマツ交雑家系の風害. *日林北支講*, **31**: 103-105.
- LANNER, R. M. and PHILLIP, A. M. IV. (1992) Natural hybridization and introgression of pinyon pines in northwestern Arizona. *Internatl. J. Plant Resource*, **153**(2): 250-257.
- LARCHER, W. (1994) Ökophysiologie der pflanzen, 5. Auflage. Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart. [佐伯敏郎監訳 (1999) 植物生態生理学. シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京].
- LEGIONNET, A., FAIVRE-RAMPANT, P., VILLAR, M., and LEFEVRE, F. (1997) Sexual and asexual reproduction in natural stands of *Populus nigra*. *Bot. Acta*, **110**: 257-263.
- LEHNER, A., CAMPBELL, M. A., WHEELER, N. C., POYKKO, T., GLOSSL, J., KREIKE, J., and NEALE, D. B. (1995) Identification of a RAPD marker linked to the pendula gene in Norway spruce (*Picea abies* (L.) KARST. f. *pendula*). *Theor. Appl. Genet.*, **91**: 1092-1094.
- LEPAGE, B. A. and BASINGER, J. F. (1991) A new species of *Larix* (Pinaceae) from the early Tertiary of Axel Heiberg Island, Arctic Canada. *Rev. Palaeobot. Palynol.*, **70**: 89-111.
- LEPAGE, B. A. and BASINGER, J. F. (1995) The evolutionary history of the genus *Larix* (Pinaceae). In SCHMIDT, W. C. and McDONALD, K. J. [compilers], Ecology and management of *Larix* forests: a look ahead, pp. 19-29. USDA, Forest Service, Intermountain Research Station, Ogden, Utah, General Technical Report GTR-INT-319.
- LEVINGS, C. S. and PRING, D. R. (1976) Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA from

normal and Texas cytoplasmic male-sterile maize. *Science*, **193**: 158–160.

- LEWANDOWSKI, A. (1997) Genetic relationships between European and Siberian larch, *Larix* spp. (Pinaceae), studied by allozymes. Is the Polish larch a hybrid between these two species? *Pl. Syst. Evol.*, **204**: 65–73.
- LEWANDOWSKI, A. and MEJNARTOWICZ, L. (1991) Levels and patterns of allozyme variation in some European larch (*Larix decidua*) populations. *Hereditas*, **115**: 221–226.
- LIDHOLM, J. and GUSTAFSSON, P. (1991) The chloroplast genome of the gymnosperm *Pinus contorta*: a physical map and a complete collection of overlapping clones. *Curr. Genet.*, **20**: 161–166.
- LIDHOLM, J., SZMIDT, A. E., HALLGREN, J.-E., and GUSTAFSSON, P. (1988) The chloroplast genomes of conifers lack one of the rRNA-encoding inverted repeats. *Mol. Gen. Genet.*, **212**: 6–10.
- LISTON, A. (1992) Variation in the chloroplast genes *rpoC1* and *rpoC2* of the genus *Astragalus* (Fabaceae): Evidence from restriction site mapping of a PCR-amplified fragment. *Am. J. Bot.*, **79**: 953–961.
- LISTON, A. and KADEREIT, J. W. (1995) Chloroplast DNA evidence for introgression and long distance dispersal in the desert annual *Senecio flavus* (Asteraceae). *Pl. Syst. Evol.*, **197**: 33–41.
- LISTON, A., ROBINSON, W. A., OLIPHANT, J. M., and ALVAREZ-BUYLLA, E. R. (1996) Length variation in the nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region of non-flowering seed plants. *Syst. Bot.*, **21**: 109–120.
- MAGUIRE, T. L. and SEDGLEY, M. (1997) Genetic diversity in *Banksia* and *Dryandra* (Proteaceae) with emphasis on *Banksia cuneata*, a rare and endangered species. *Heredity*, **79**: 394–401.
- MANHART, J. R. (1994) Phylogenetic analysis of green plant *rbcL* sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **3**: 114–127.
- MARROCCO, R., GELATI, M. T., and MAGGINI, F. (1996) Nucleotide sequence of the internal transcribed spacers and 5.8S region of ribosomal DNA in *Pinus pinea* L. *DNA Sequence*, **6**: 175–177.
- MARTIN, G. B., WILLIAMS, J. G., and TANKSLEY, S. D. (1991) Rapid identification of markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **88**: 2336–2340.
- MARTIN, W., LYDIATE, D., BRINKMANN, H., FORKMANN, G., SAEDLER, H., and CERFF, R. (1993) Molecular phylogenies in angiosperm evolution. *Mol. Biol. Evol.*, **10**: 140–162.
- MARTINSSON, O. (1995) Systematics and differentiation in the genus *Larix* in Eurasia—Proposal for an international research project. *In* MARTINSSON, O. edited, *Proc. IUFRO (S2.02-07) Larch genetics and breeding*, pp. 93–98, Swedish Univ. of Agricult. Sci. Dep. of Silvicult. Reports, No. 39.
- MARUTA, E., KAMITANI, T., OKABE, M., and IDE, Y. (1997) Desiccation-tolerance of *Fagus crenata* BLUME seeds from localities of different snowfall regime in central Japan. *J. For. Res.*, **2**: 45–50.
- MATTHEW, W. D. (1915) Climate and evolution. *Ann. New York Acad. Sci.*, **24**: 171–318.
- MCCUTCHEN, C. W. (1977) The spinning rotation of ash and tulip tree samaras. *Science*, **197**: 691–696.
- MCGINLEY, M. A., SMITH, C. C., ELLIOTT, P. F., and HIGGINS, J. J. (1990) Morphological constraints on seed mass in lodgepole pine. *Func. Ecol.*, **4**: 183–192.
- MIKI, S. (1956) Remains of *Pinus koraiensis* S. et Z. and associated remains in Japan. *Bot. Mag. Tokyo*, **69**: 447–453.
- MILLER, C. N., Jr. and LI, P. (1994) Structurally preserved larch and spruce cones from the Pliocene of Alaska. *Quarter. Intl.*, **20**: 30.
- MILYUTIN, L. I. and VISHNEVETSKAIA, K. D. (1992) Larch and larch forests of Siberia. *In* SCHMIDT, W. C. and McDONALD, K. J. [compilers], *Ecology and management of Larix forests: a look ahead*, pp. 50–53, USDA Forest Service, Intermountain Research Station, Ogden, Utah, General Technical Report GTR-INT-319.
- 宮部金吾・工藤祐舜 (1920) 北海道主要樹木図譜. 186 pp., 北大図書刊行会.
- MORGAN, D. R., SOLTIS, D. E., and ROBERTSON, K. R. (1994) Systematic and evolutionary implications of *rbcL* sequence variation in Rosaceae. *Am. J. Bot.*, **81**: 890–903.
- M'RIBU, H. K. and HILU, K. W. (1994) Detection of interspecific and intraspecific variation in *Panicum millets* through random amplified polymorphic DNA. *Theor. Appl. Genet.*, **88**: 412–416.
- NAGAOKA, T. and OGIHARA, Y. (1997) Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*,

94: 597-602.

- 永田義明 (1966) ソ連産カラマツおよびヨーロッパトウヒの長日処理について. 北海道の林木育種, **9**(1): 10-13.
- 中井猛之進 (1938) 満鮮に自生する松柏類の種類並びにその分布の状態 (予報) 3. 朝鮮山林会報, **165**: 26-32.
- 榑崎康二・渡辺敦史・富田啓治・佐々木義則・白石 進 (1996) ヒノキとサワラの種間雑種および園芸品種の DNA 分析. 日林誌, **78**: 157-161.
- NEALE, D. B., MARSHALL, K. A., and SEDEROFF, R. R. (1989a) Chloroplast and mitochondrial DNA are paternally inherited in *Sequoia sempervirens* D. DON ENDL. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **86**: 9347-9349.
- NEALE, D. B., WHEELER, N. C., and ALLARD, R. W. (1989b) Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine. Theor. Appl. Genet., **77**: 212-216.
- NEI, M. (1987) Molecular evolutionary genetics. Columbia Univ. Press, New York, [五条堀 孝・斉藤成也訳 (1990) 分子進化遺伝学 (根井正利著). 433 pp., 培風館, 東京].
- NEI, M. and LI, W. H. (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **76**: 5269-5273.
- NIKLAS, K. J. (1994) Plant allometry: The scaling of form and process. Univ. of Chicago Press.
- NILSSON, T. (1983) The Pleistocene, geology and life in the Quaternary Ice Age. 651 pp., D. Reidel, Dordrecht.
- NOVY, R. G. and VORSA, N. (1996) Evidence for RAPD heteroduplex formation in cranberry: implications for pedigree and genetic-relatedness studies and a source of co-dominant RAPD markers. Theor. Appl. Genet., **92**: 840-849.
- NOVY, R. G., KOBAC, C., GOFFREDA, J., and VORSA, N. (1994) RAPDs identify varietal misclassification and regional divergence in cranberry [*Vaccinium macrocarpon* (AIT.) PURSH]. Theor. Appl. Genet., **88**: 1004-1010.
- NYFFELER, R. (1999) A new ordinal classification of the flowering plants. Trends Ecol. Evol., **14**: 168-170.
- 織田春紀 (1995) 馬ノ神岳カラマツの現地外保全木の特性. 林木の育種, **177**: 6-9.
- OSTENFELD, C. H. and LARSEN, C. S. (1930) The species of the genus *Larix* and their geographical distribution. 106 pp., Bianco Lunos Bogtrykkeri, Kobenhavn.
- 小沢準二郎 (1962) 針葉樹のタネ (生産と管理). 451 pp., 地球出版, 東京.
- PALMER, J. D. (1987) Chloroplast DNA evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation. Am. Nat., **130**: S6-S29.
- PALMER, J. D. and THOMPSON, W. F. (1982) Chloroplast DNA rearrangements are more frequent when a large inverted repeat sequence is lost. Cell, **29**: 537-550.
- PALMER, J. D. and ZAMIR, D. (1982) Chloroplast DNA evolution and phylogenetic relationships in *Lycopersicon*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **79**: 5006-5010.
- PALMER, J. D., JANSEN, R. K., MICHAELS, H. J., CHASE, M. W., and MANHART, J. R. (1988) Chloroplast DNA variation and plant phylogeny. Ann. Missouri Bot. Gard., **75**: 1180-1206.
- PAQUES, L. E. (1989) A critical review of larch hybridization and its incidence on breeding strategies. Ann. Sci. For., **46**: 141-153.
- PATSCHKE, W. (1913) Über die extratropischen ostasiatischen Coniferen und ihre Bedeutung für die pflanzengeographische Gliederung Ostasiens. Botanische Jahrbcher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie, **48**: 626-776.
- PAULEY, S. S. and PERRY, T. O. (1954) Ecotypic variation of the photoperiodic response in *Populus*. J. Arnold Arbor., **35**: 167-187.
- PELTIER, D., FARCY, E., DULIEU, H., and BERVILLE, A. (1994) Origin, distribution and mapping of RAPD markers from wild *Petunia* species in *Petunia* hybrid Hort lines. Theor. Appl. Genet., **88**: 637-645.
- PERRON, M., GORDON, A. G., and BOUSQUET, J. (1995) Species-specific RAPD fingerprints for the closely related *Picea mariana* and *P. rubens*. Theor. Appl. Genet., **91**: 142-149.
- PHILIPPE, G. (1995) Contribution to the improvement of seed extraction in larch. In MARTINSSON, O. edited, Proc. IUFRO (S2.02-07) Larch genetics and breeding, pp. 165-176, Swedish Univ. of Agricult. Sci. Dep. of Silvicult. Reports, No. 39.
- PILGER, R. (1926) Pinaceae. Naturl. Pfl.-fam. 2 Aufl. Bd., **13**: 311-312, 326-329.

- POWELL, G. R., TOSH, K. J., and REMPHREY, W. R. (1984) Occurrence and distribution of cones borne laterally on long shoots of *Larix laricina*. *Can. J. Bot.*, **62**: 771-777.
- PRAGER, E. M., FOWLER, D. P., and WILSON, A. C. (1976) Rates of evolution in conifers (Pinaceae). *Evolution*, **30**: 637-649.
- PRICE, R. A., OLSEN-STOJKOVICH, J., and LOWENSTEIN, J. M. (1987) Relationships among the genera of Pinaceae: an immunological comparison. *Syst. Bot.*, **12**: 91-97.
- PROBERT, R. J., SMITH, R. D., and BIRCH, P. (1985) Germination responses to light and alternating temperatures in European populations of *Dactylis glomerata* L. 1. Variability in relation to origin. *New Phytol.*, **99**: 305-316.
- PUTENIKHIN, V. P. and MARTINSSON, O. (1995) Present distribution of *Larix sukaczewii* DYL. in Russia. 78 pp., Sveriges Lantbruksuniversitet, Umea.
- QIAN, T., ENNOS, R. A., and HELGASON, T. (1995) Genetic relationships among larch species based on analysis of restriction fragment variation for chloroplast DNA. *Can. J. For. Res.*, **25**: 1197-1202.
- RATNAPARKHE, M. B., GUPTA, V. S., VEN MURTHY, M. R., and RANJEKAR, P. K. (1995) Genetic fingerprinting of pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) MILLSP.] and its wild relatives using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, **91**: 893-898.
- RIESEBERG, L. H. and SOLTIS, D. E. (1991) Phylogenetic consequences of cytoplasmic gene flow in plants. *Evol. Trends in Plants*, **5**: 65-84.
- RIESEBERG, L. H., CARTER, R., and ZONA, S. (1990) Molecular tests of the hypothesized hybrid origin of two diploid *Helianthus* species (Asteraceae). *Evolution*, **44**: 1498-1511.
- RIESEBERG, L. H., SOLTIS, D. E., and PALMER, J. D. (1988) A molecular reexamination of introgression between *Helianthus annuus* and *H. bolanderi* (Compositae). *Evolution*, **42**: 227-238.
- ROWLAND, L. J. and LEVI, A. (1994) RAPD-based genetic linkage map of blueberry derived from a cross between diploid species (*Vaccinium darrowi* and *V. ellioti*). *Theor. Appl. Genet.*, **87**: 863-868.
- SAGHAI-MAROOF, M. A., SOLIMAN, K. M., JORGENSEN, R. A., and ALLARD, R. W. (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **81**: 8014-8018.
- 酒井 昭 (1982) 植物の耐凍性と寒冷適応. 469 pp., 学会出版センター, 東京.
- 酒井 昭 (1995) 植物の分布と環境適応. 164 pp., 朝倉書店, 東京.
- SANGER, F., NICKLEN, S., and COULSON, A. R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **74**: 5463-5467.
- 佐々木忠兵衛 (1984) 北海道中央部における樹木の植物季節と気温. *森林文化研究*, **4**: 77-86.
- 佐々木忠兵衛・倉橋昭夫・浜谷稔夫 (1970) 導入カラマツ属の季節学的調査資料. *日林北支講*, **19**: 75-80.
- 佐々木忠兵衛・倉橋昭夫・浜谷稔夫 (1971) カラマツ・グイマツの採種時期と発芽力 (予測). *日林北支講*, **20**: 139-142.
- SCHEEPERS, D., ELOY M.-C., and BRIQUET, M. (1997) Use of RAPD patterns for clone verification and in studying provenance relationships in Norway spruce (*Picea abies*). *Theor. Appl. Genet.*, **94**: 480-485.
- SCHNELL, R. J., RONNING, C. M., and KNIGHT, R. J., Jr. (1995) Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* L. using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, **90**: 269-274.
- SCHORN, H. E. (1994) A preliminary discussion of fossil larches (*Larix*, Pinaceae) from the Arctic Quarter. *Intnatl.*, **22/23**: 173-183.
- SENJO, M., KIMURA, K., WATANO, Y., UEDA, K., and SHIMIZU, T. (1999) Extensive mitochondrial introgression from *Pinus pumila* to *P. parviflora* var. *pentaphylla* (Pinaceae). *J. Plant Res.*, **112**: 97-105.
- SHARMA, S. K., DAWSON, I. K., and WAUGH, R. (1995) Relationships among cultivated and wild lentils revealed by RAPD analysis. *Theor. Appl. Genet.*, **91**: 647-654.
- 石 福臣 (1997) 中国東北部におけるカラマツ属樹木の類縁関係および生態的特性の解明. 東大院農学生命科学研究科博士論文.
- 石 福臣・木佐貫博光・鈴木和夫 (1996) 中国大興安嶺における山火事跡地の森林更新の初期過程. *日林論*, **107**: 223-225.
- 石 福臣・木佐貫博光・鈴木和夫 (1997) 中国東北部におけるカラマツ林の分布様式とその構成. *日林論*, **108**: 287-289.

- SHIMANO, K. and MASUZAWA, T. (1995) Comparison of seed preservation of *Fagus crenata* BLUME. under different snow conditions. J. Jpn. For. Soc., **77**: 79-82.
- 清水建美 (1991) 伝統的分類学と DNA 分類学. 植物地理・分類研究, **39**: 41-60.
- 白石 進・渡辺敦史 (1995) *rbcL* 遺伝子多型を利用したアカマツとクロマツの葉緑体ゲノムの識別. 日林誌, **77**: 429-436.
- 白石 進・磯田圭哉・渡辺敦史・河崎久男 (1995) DNA が語る馬ノ神岳カラマツの生い立ち. 林木の育種, **177**: 1-5.
- 白石 進・磯田圭哉・渡辺敦史・河崎久男 (1996) 蔵王山系馬ノ神岳に生存するカラマツの DNA 分類学的解析. 日林誌, **78**: 175-182.
- SKEPNER, A. P. and KRANE, D. E. (1998) RAPD reveals genetic similarity of *Acer saccharum* and *Acer nigrum*. Heredity, **80**: 422-428.
- SKROCH, P. and NIENHUIS, J. (1991) Impact of scoring error and reproducibility of RAPD data on RAPD based estimates of genetic distance. Theor. Appl. Genet., **91**: 1086-1091.
- SNEATH, P. H. and SOKAL, R. R. (1973) Numerical taxonomy. 573 pp., W. H. Freeman and Co., San Francisco.
- 相馬寛吉・辻 誠一郎 (1987) 植生. 日本第四紀学会編「日本第四紀地図解説」, pp. 80-86, 東京大学出版会, 東京.
- SOLTIS, D. E., SOLTIS, P. S., CLEGG, M. T., and DURBIN, M. (1990) *rbcL* sequence divergence and phylogenetic relationships in Saxifragaceae sensu lato. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **87**: 4640-4644.
- SOLTIS, D. E., SOLTIS, P. S., RANUER, T. A., and NESS, B. D. (1989) Chloroplast DNA variation in a wild plant, *Tolmiea menziesii*. Genetics, **121**: 819-826.
- STAMMERS, M., HARRIS, J., EVANS, G. M., HAYWARD, M. D., and FORSTER, J. W. (1995) Use of random PCR (RAPD) technology to analyse phylogenetic relationships in the *Lolium/Festuca* complex. Heredity, **74**: 19-27.
- STEELE, K. P. and VILGALYS, R. (1994) Phylogenetic analysis of Polemoniaceae using nucleotide sequences of the plastid gene *matK*. Syst. Bot., **19**: 126-142.
- STEWART, J. D., HOGG, E. H., HURDLE, P. A., STADT, K. J., TOLLESTRUP, P., and LIEFFERS, V. J. (1998) Dispersal of white spruce seed in mature aspen stands. Can. J. Bot., **76**: 181-188.
- STRAUSS, S. H., DOERKSEN, A. H., and BYRNE, J. R. (1990) Evolutionary relationships of Douglas-fir and its relatives (genus *Pseudotsuga*) from DNA restriction fragment analysis. Can. J. Bot., **68**: 1502-1510.
- STRAUSS, S., HONG, Y.-P., and HIPKINS, V. D. (1993) High levels of population differentiation for mitochondrial DNA haplotypes in *Pinus radiata*, *muricata*, and *attenuata*. Theor. Appl. Genet., **86**: 605-611.
- STRAUSS, S., PALMER, J. D., HOWE, G. T., and DOERKSEN, A. H. (1988) Chloroplast genomes of two conifers lack a large inverted repeat and are extensively rearranged. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **85**: 3898-3902.
- 杉本順一 (1987) 世界の針葉樹. 302 pp., 井上書店, 東京.
- SZMIDT, A. E., ALDEN, T., and HALLGREN, J.-E. (1987) Paternal inheritance of chloroplast DNA in *Larix*. Plant Mol. Biol., **9**: 59-64.
- SZMIDT, A. E., WANG, X.-R., and LU, M.-Z. (1996) Empirical assessment of allozyme and RAPD variation in *Pinus sylvestris* (L.) using haploid tissue analysis. Heredity, **76**: 412-420.
- 只木良也・北村秀夫・蟹江清丞・佐野弘美・重松明子・大津慎一 (1994) 標高に伴うカラマツの葉の開葉と落葉の挙動. 日生態会誌, **44**: 305-314.
- 高橋啓二 (1960) 植物分布と積雪. 森林立地, **2**: 19-24.
- 高橋延清・柴田 前 (1961) カラマツ類の品種改良に関する研究 (第3報) —グイマツ林からとった種子の天然雑種 F₁ 苗 (グイマツ×ニホンカラマツ) の出現度合一. 日林北支講, **10**: 13-15.
- TAKASO, T. (1996) Pollination mechanisms in conifers. Acta Phytotaxon. Geobotanica, **47**: 253-269.
- 竹内 亮 (1941) 満州国に産する針葉樹の種類とその分布 (予報). 実験林時報, **3**: 277-282.
- 舘脇 操・伊藤浩司・遠山三樹夫 (1965) カラマツ林の群落学的研究. 北大演報, **24**(1): 1-176.
- TERAUCHI, R., TERACHI, T., and TSUNEWAKI, K. (1989) Physical map of chloroplast DNA of aerial yam, *Dioscorea bulbifera* L. Theor. Appl. Genet., **78**: 1-10.
- THOMPSON, J. N. and WILLSON, M. F. (1979) Evolution of temperate fruit/bird interactions: phenological

- strategies. *Evolution*, **33**: 973–982.
- TIFFNEY, B. H. (1985) The Eocene North Atlantic land bridge: its importance in Tertiary and modern phytogeography of the Northern Hemisphere. *J. Arnold. Arbor.*, **66**: 243–273.
- TIMERJANOV, A. S. H. (1997) Lack of allozyme variation in *Larix sukaczewii* DYL. from the southern Urals. *Silvae Genetica*, **46**: 61–64.
- TIVANG, J. G. and OSBORN, T. C. (1994) Comparison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationships within and among cruciferous species. *Theor. Appl. Genet.*, **88**: 973–980.
- TOMARU, N., TAKAHASHI, M., TSUMURA, Y., TAKAHASHI, M., and OHBA, K. (1998) Intraspecific variation and phylogeographic patterns of *Fagus crenata* (Fagaceae) mitochondrial DNA. *Am. J. Bot.*, **85**: 629–636.
- 戸沢俊治 (1995) 天然生北限のカラマツ林. 林木の育種, **175**: 9–11.
- 戸沢俊治・千葉宗男・永野正造・三浦義之・菅野 薫・西山敏正 (1975) 東北地方における天然生カラマツ林の生態 I, 天然生北限の馬ノ神岳のカラマツ林. 岩大演報, **6**: 1–18.
- TSUDZUKI, J., NAKASHIMA, K., TSUDZUKI, T., HIRATSUKA, J., SHIBATA, M., WAKASUGI, T., and SUGIURA, M. (1992) Chloroplast DNA of black pine retains a residual inverted repeat lacking rRNA genes: nucleotide sequences of *trnQ*, *trnK*, *psvA*, *trnI* and *trnH* and the absence of *rps16*. *Mol. Gen. Genet.*, **232**: 206–214.
- TSUMURA, Y. and SUYAMA, Y. (1998) Differentiation of mitochondrial DNA polymorphisms in populations of five Japanese *Abies* species. *Evolution*, **52**: 1031–1042.
- TSUMURA, Y., OGIHARA, Y., SASAKUMA, T., and OHBA, K. (1993) Physical map of chloroplast DNA in sugi, *Cryptomeria japonica*. *Theor. Appl. Genet.*, **86**: 166–172.
- TSUMURA, Y., TAGUCHI, H., SUYAMA, Y., and OHBA, K. (1994) Geographical cline of chloroplast DNA variation in *Abies mariesii*. *Theor. Appl. Genet.*, **89**: 922–926.
- TSUMURA, Y., YOSHIMURA, K., TOMARU, N., and OHBA, K. (1995) Molecular phylogeny of conifers using RFLP analysis of PCR-amplified specific chloroplast genes. *Theor. Appl. Genet.*, **91**: 1222–1236.
- TYRRELL, L. E. and BOERNER, R. E. (1987) *Larix laricina* and *Picea mariana*: relationships among leaf life-span, foliar nutrient patterns, nutrient conservation, and growth efficiency. *Can., J. Bot.*, **65**: 1570–1577.
- 上原敬二 (1959) 樹木大図説 I. pp. 289–303, 上明書房, 東京.
- VAARTAJA, O. (1959) Evidence of photoperiodic ecotypes in trees. *Ecol. Monogr.*, **29**: 91–111.
- VANDER WALL, S. B. (1992) The role of animals in dispersing a “wind-dispersed” pine. *Ecology*, **73**: 614–621.
- VEDEL, F., QUETIER, F., and BAYEN, M. (1976) Specific cleavage of chloroplast DNA from higher plants by *EcoRI* restriction nuclease. *Nature*, **263**: 440–442.
- VIRECK, L. A. (1973) Wildlife in the tiga of Alaska. *Quarter. Res.*, **3**: 465–495.
- 王 戰・張 頌云 (1992) 中国落叶松林. 265 pp., 中国林業出版社, 北京.
- WANG, T. L. and TIGERSTEDT, P. M. A. (1996) Growth rates and phenology of fast- and slow-growing families over an entire growth period in *Betula pendula* ROTH. *Silvae Genetica*, **45**: 124–129.
- WAREING, P. F. and PHILLIPS, I. D. J. (1981) Growth and differentiation in plants (3rd. edition). Pergamon Press, Oxford.
- WHITE, E. E. (1990a) Chloroplast DNA in *Pinus monticola* 1. Physical map. *Theor. Appl. Genet.*, **79**: 119–124.
- WHITE, E. E. (1990b) Chloroplast DNA in *Pinus monticola* 2. Survey of within-species variability and detection of heteroplasmic individuals. *Theor. Appl. Genet.*, **79**: 251–255.
- WHITE, E. E., WATKINS, R. F., and FOWLER, D. P. (1993) Comparative restriction site maps of chloroplast DNA of *Picea abies*, *Picea glauca*, *Picea mariana*, and *Picea sitchensis*. *Can. J. For. Res.*, **23**: 427–435.
- WHITHAM, T. G. (1989) Plant hybrid zones as sinks for pests. *Science*, **244**: 1490–1493.
- WIGHT, W. F. (1907) A new larch from Alaska. *Smithon. Misc. Coll. L.*, p. 174.
- WILLIAMS, J. G., KUBELIK, A. R., LIVAK, K. J., RAFALSKI, J. A., and TINGEY, S. V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic marker. *Nucl. Acids Res.*, **18**: 6531–6535.
- WILLSON, M. F. (1988) Phenology of vertebrate removal of *Myoporum acuminatum* fruits in a Queens-

- land forest. *Evol., Ecol.*, **2**: 283-288.
- WILSON, M. A., GAUT, B., and CLEGG, M. T. (1990) Chloroplast DNA evolves slowly in the palm family (Arecaceae). *Mol. Biol. Evol.*, **7**: 303-314.
- WOLFE, J. A. (1972) An interpretation of Alaskan Tertiary floras. In GRAHAM, A. edited, *Floristics and paleofloristics of Asia and eastern North America*, pp. 201-226, Elsevier, Amsterdam-London-New York.
- 柳沢聡雄 (1970) 極東のカラマツからみたニホンカラマツの形態, 生態上の特性—統報—。北海道の林木育種, **13**(1): 4-10.
- 柳沢聡雄・中田 功 (1968) 東シベリアと極東のカラマツ属の地理的分布とその系統発生経過—デリス著東シベリアと極東のカラマツを中心としての紹介 (5)—。北海道の林木育種, **11**(2): 18-27.
- 矢野牧夫 (1985) 渡島半島の更新統から産出する *Larix* (カラマツ) 属の遺体について。北海道開拓記念館研究年報, **13**: 11-21.
- 矢野牧夫 (1994) 日本列島北限「カラマツ」球果の変異とその古植物学的意味。第四紀研究, **33**: 95-105.
- 矢野牧夫 (1995) 北限のカラマツとその古植物学的意義。林木の育種, **175**: 1-3.
- YU, Y.-L. and LIN, T.-Y. (1997) Construction of phylogenetic tree for *Nicotiana* species based on RAPD markers. *J. Plant Res.*, **110**: 187-193.
- YURTSEV, B. A. (1972) Phytogeography of Northeastern Asia and the problem of transberingian floristic interrelations. In GRAHAM, A. edited, *Floristics and paleofloristics of Asia and eastern North America*, pp. 19-54, Elsevier, Amsterdam-London-New York.

(2000年4月28日受付)

(2000年7月14日受理)

Summary

The genus *Larix* is one of the most difficult genera in the Pinaceae to classify, because the morphology of its members is very similar. Ten common species are distinguished primarily on the basis of cone morphology. These species are divided into two sections according to whether the bract extends from the seed scale. Short-bract types are included in the section *Larix*, while long-bract types are included in the section *Multiserialis*. The genus *Larix* is thought to be a comparatively new genera because interspecific hybridization between species occurs quite readily. But the progenitor of the genus *Larix* appears in the early Tertiary, because the oldest *Larix* fossils from the middle Eocene are found at high latitudes in North America. Hence, we tried to clarify the phylogenesis of the genus *Larix* using ecological and DNA results.

To make clear the interspecific difference in the ecological characters of *Larix* species, phenological observation was performed. Because of the wide range of distribution, outstanding differences in phenological characters were predicted among *Larix* species. Nevertheless, little difference was found in the time of bud burst as or in floral phenology, which implies the common response of the bud to the cumulative temperature in spring. On the other hand, outstanding variation among *Larix* species in the time of the needle coloring and defoliation was found, which implies the latitude of geographic distribution would regulate the autumn phenology. There was also an outstanding difference in the time of seed fall among *Larix* species, which had no relation to the differences observed in needle coloring or defoliation. The time of seed fall would be affected by the angle of the seed scale to the axis of the cone as well as the amount of resin in cones.

The interspecific relationships of 8 species and 4 varieties, 14 taxa in total in the genus *Larix* were clarified using cpDNA RFLP, *rbcL* sequence, and RAPDs. Only a few RFLPs and only 6 sites of substitution in 1,309 bps of *rbcL* have been recognized in the cpDNA of taxa in the genus *Larix*, which implies that there are very few cpDNA polymorphisms in the genus. The genetic distance between *Larix* taxa was generated using 111 RAPD markers and then a UPGMA cluster analysis of *Larix* taxa was performed. Taxa that occur close

together were very closely related. These included *L. decidua* and *L. decidua* var. *polonica*, as well as *L. occidentalis* and *L. lyallii*.

The American species are classified into two different sections. The North American species *L. laricina* is a short-bract species classified in the section *Larix*. Nevertheless, *L. laricina* has the same cpDNA restriction sites and the same substitution sites in *rbcL* as the two other North American *Multiserialis* species, *L. lyallii* and *L. occidentalis*. The North American species were distinct from the Eurasian species. This raises the possibility that the three *Larix* species simultaneously evolved from a common ancestral species and then diversified.

The North Eurasian species *L. decidua*, *L. sibirica*, *L. gmelinii*, and *L. kaempferi* formed a clade in the cpDNA RFLP and RAPD results. There was no polymorphism in the cpDNA between the *L. gmelinii* varieties. In the RAPD results, the genetic distances between the *L. gmelinii* varieties were not as large as those observed between the other species. This confirms that the varieties of *L. gmelinii* reflect a genetically related group. Considering the genetic distance, most of the *L. gmelinii* varieties have diversified little or else introgression among them has occurred recently. In the RAPD results, the closest taxa to *L. kaempferi* are the two strains of *L. gmelinii* var. *olgensis*, which implies that *L. kaempferi* reached Japan from the continent via the Korean Peninsula and not via Sakhalin.

The South Eurasian species, *L. potaninii*, has a different cpDNA type from those of other species. There are two substitutions unique to *L. potaninii* in *rbcL*. In the RAPD results, *L. potaninii* was the most isolated taxa in *Larix*, which implies that *L. potaninii* diverged from the other species a relatively long time ago. *L. potaninii* has quite a different genotype from the species distributed in North Eurasia and North America. The *Larix* taxa were divided into three distinct clades of North American, North Eurasian, and South Eurasian species. These results were somewhat different from the morphological classification, although they correspond to chromosome characters reasonably well. It is not yet clear which clade is the more ancestral. Based on current evidence, it is most probable that *Larix* originated in the early Tertiary. The DNA results could not firmly support this hypothesis regarding the origin and geographical expansion of *Larix* to its current wide range. The phenological results did not reflect the phylogeny in the genus, which means those phenological characters have been constructed in adapting to the environment of the provenance after diversification. During the repeated expansions and retreats of the glacial period, hybridization and introgression between the *Larix* species and populations must have occurred.

Key words: *Larix*, classification, phenology, DNA analysis, phylogeny

Abstract

Experimental Study on Groundwater Fluctuation in Landslide Area —the Relation between Groundwater Drainage Works and Landslide Movement—

Tsungming TSAO

Pore water pressure fluctuation has been proved to be an important cause of landslide movement in landslide areas, but it is difficult to observe the mechanism of pore water pressure fluctuation at the various depths of the slip surface. The purposes of this study are as follows: 1) to examine the pore water pressure fluctuation in shallow and deep strata at the slip surface. 2) to examine the mechanism of pore water pressure fluctuation and to grasp the environment of underground hydrology in the landslide by controlled drainage experiment. 3) to examine the characteristics of land deformation around drainage wells and to estimate the effects of drainage well works. The data used in this study was collected at the Tairasawa landslide area of Saitama prefecture during 1981~1990.

The results show that the detailed case study analysis plays an important role in groundwater research in landslide area. Characteristics of pore water pressure fluctuation were obtained from detailed observation of pore water pressure and drainage volume at the slip surface. It is thought that this research will aid drainage well works in the future.

Study on the Morphological and Ecological Characteristics of the Genus *Larix* with Special Reference to Its Molecular Phylogeny

Hiromitsu KISANUKI

The interspecific relationships in the genus *Larix* were clarified using phenological observation, cpDNA RFLP, *rbcl*, and RAPDs. Significant differences in the time of needle coloring, defoliation, and seed fall were revealed between *Larix* species. In the DNA results, the North Eurasian species formed a clade, while the South Eurasian species was the most isolated taxa in *Larix*. The North American species were distinct from the Eurasian species. These results were somewhat different from the morphological classification and phenological results, although they correspond to chromosome characters reasonably well. *Larix* is postulated to consist of three clades, which match the geographic distribution.