

北海道におけるミズナラの遺伝資源保存および 天然林施業に関する生態遺伝学的研究*

生方正俊⁽¹⁾

Masatoshi Ubukata⁽¹⁾

Ecological genetic study on the Genetic Resources and Natural Forest Management of
Mizunara (*Quercus mongolica* var. *grosseserrata*) in Hokkaido

目 次

序 論

1. 研究目的	29
2. 研究の背景	29
3. 本論文の構成	31

第1章 ミズナラの繁殖特性

第1節 目的および研究史	31
第2節 ミズナラ雄花の着生特性	32
I. はじめに	32
II. 調査地と調査方法	33
III. 結 果	
1. 天然林内での雄花着生の年次変動	34
2. 雄花着生と周囲の環境	35
IV. 考 察	37

第3節 ミズナラの堅果生産

I. はじめに	38
II. 材料と方法	39
III. 結 果	

(1) 林木育種センター

〒319-1301 茨城県多賀郡十王町大字伊師3809-1

Forest Tree Breeding Center

3809-1 Ishi, Juo, Taga, Ibaraki 319-1301 Japan

* 本論文は九州大学博士号(農学)請求論文である。

1. 雌花の結実過程	40
2. 堅果生産量の年次変動	42
IV. 考 察	44
第 4 節 ミズナラの近交弱勢	
I. はじめに	45
II. 材料と方法	46
III. 結 果	47
IV. 考 察	48
第 2 章 ミズナラ天然林の遺伝的構造	
第 1 節 目的および研究史	48
第 2 節 天然林内の林冠木集団と稚樹集団の遺伝的構造	
I. はじめに	49
II. 調査地と方法	49
III. 結 果	51
IV. 考 察	53
第 3 節 北海道におけるミズナラ天然林の遺伝的構造	
I. はじめに	54
II. 調査地と方法	54
III. 結 果	55
IV. 考 察	55
第 3 章 ミズナラとカシワの種間交雑	
第 1 節 目的および研究史	56
第 2 節 ミズナラとカシワの交雑和合性	
I. はじめに	57
II. 材料と方法	58
III. 結果および考察	58
第 3 節 ミズナラ×カシワ種間雑種の形態的特性	
I. はじめに	59
II. 材料と方法	59
III. 結 果	61
IV. 考 察	63
第 4 節 ミズナラ×カシワ種間雑種の花粉表面の形態	
I. はじめに	64
II. 材料と方法	64

Ⅲ. 結果および考察	66
第5節 ミズナラ×カシワ種間雑種の繁殖特性	
Ⅰ. はじめに	67
Ⅱ. 材料と方法	67
Ⅲ. 結果	68
Ⅳ. 考察	71
第6節 天然林内での種間交雑の検証	
Ⅰ. はじめに	72
Ⅱ. 材料と方法	72
Ⅲ. 結果	73
Ⅳ. 考察	74
第4章 北海道におけるミズナラの地理的変異	
第1節 目的および研究史	74
第2節 PCR-RFLP法による葉緑体DNAマーカの探索	
Ⅰ. はじめに	75
Ⅱ. 実験方法	76
Ⅲ. 結果および考察	76
第3節 葉緑体DNAの地理的変異	
Ⅰ. はじめに	78
Ⅱ. 材料と方法	78
Ⅲ. 結果	78
Ⅳ. 考察	79
第4節 アロザイムの地理的変異	
Ⅰ. はじめに	80
Ⅱ. 材料と方法	81
Ⅲ. 結果	83
Ⅳ. 考察	83
第5節 葉および堅果の形質の地理的変異	
Ⅰ. はじめに	84
Ⅱ. 材料と方法	84
Ⅲ. 結果	
1. 葉の形質の反復率と地理的変異	86
2. 堅果形質の地理的変異	88
Ⅳ. 考察	90
第6節 開葉時期の地理的変異	

I. はじめに	91
II. 材料と方法	91
III. 結 果	92
IV. 考 察	95
第5章 総合考察	
1. ミズナラの繁殖特性	97
2. ミズナラ天然林の遺伝的構造	98
3. ミズナラの種間交雑	99
4. 北海道におけるミズナラの地理的変異	99
5. 北海道におけるミズナラの遺伝資源保存に対する提言	101
6. ミズナラにおける遺伝育種的な天然林施業技術の確立に向けた提言	101
摘 要	103
謝 辞	105
引用文献	106

序 論

1. 研究目的

ミズナラ (*Quercus mongolica* Fischer ex Turcz. var. *grosseserrata* (Blume) Rehd. et Wils.) は、ブナ科コナラ属の高木性の樹種で日本各地に広く分布している。材は重く、堅く、緻密であり、家具材や内装材として高く評価されている (高橋, 1984)。また、大型の堅果を大量に生産することから、クマ、ネズミ、リス等の栄養源となり、野生動物にとっても重要な樹種といえる (青井, 1993)。

本研究は、ミズナラの繁殖特性、近縁種であるカシワとの雑種性、林分の遺伝的構造および北海道における地理的変異の調査から、北海道においてミズナラの保有する種内変異を解析し、その変異の成因を明らかにすることを目的とした。さらに、これらの生態遺伝学的な解析結果をもとに、遺伝・育種的な立場から、ミズナラの遺伝資源としての保存方策および天然林施業技術の確立に向けた提言を行うことを目的とした。

研究着手の第一の理由は、ミズナラの遺伝資源を効果的に保存、評価するためには、林分内の遺伝的な構造や、様々な形質の地理的変異を明らかにする必要があるためである。地理的変異の解析には、葉や堅果の形態といった従来から使用されている形質に加え、アイソザイムマーカや近年、発展が著しいDNAマーカを用いた。各形質は、遺伝性や選択に対する反応性が異なることから、これらの形質を合せて用いることにより、総合的な変異の理解が可能である。

第二の理由は、北海道においてミズナラは近年、天然林資源の減少、質的な劣化が指摘されており (長内, 1988; 梅木, 1998)、資源回復に向けた天然林施業技術の確立が期待されているためである。ミズナラは、主要な林業樹種にもかかわらず、人工造林はほとんど行われておらず更新のほとんどを天然林施業に依存している (梅木, 1998)。更新する次世代の遺伝的な特性を決定するのは、その親である現在の世代である。現在の世代の繁殖特性や林分の遺伝的構造を明らかにし、目的に応じた遺伝的特性をもつ次世代を更新させる手法について言及した。

第三の理由は、ミズナラの変異を解明するためには、近縁な他種との交雑和合性を検討する必要があるためである。北海道において、経験的にミズナラは、コナラやカシワといった同属内の他種と自然交雑が起こっているとされ (宮崎, 1988)、これがミズナラの材質の地域間差、産地間差を生んでいるといわれている (清水, 1998)。ミズナラの地理的変異を明らかにする上で、種間交雑は最も重要な要因と考えられる。

2. 研究の背景

開拓以前北海道は、鬱蒼とした森林に覆われ、初期の開拓の歴史は、そのまま森林を伐採し農地を切り開く歴史であったという。ミズナラは、大径になり、材は重くかつ堅いことや薪にするのに割れにくく、木炭にするのも火をハジクとして、イタヤ材よりも嫌われていたという (深澤, 1988)。明治39年からインチ材としての輸出が始まり (深澤, 1988)、高級家具材としてヨーロッパで北海道産のナラ材の地位が確立していった。北海道内でも旭川を中心にミズナラ、ウダイカンバ等の天然林資源を背景とした木材加工産業が盛んとなった。

平成10年4月1日現在、北海道全体のナラ類 (ミズナラ、カシワおよびコナラの合計) の蓄積は4,721万 m^3 で

あり、森林総蓄積の7.8%を占める。これは、トドマツ、カラマツ類、カンバ類に続いて第4位の蓄積量である(北海道水産林務部, 1998)。近年、ナラ類の蓄積量や総蓄積量に占める割合も減少傾向にある。これは、人工林の針葉樹の蓄積が増加したことによると考えられるが、ミズナラは、過去から伐採が続いたことや造林されることが希であることが原因と考えられている。一般民有林では、ナラ類3種の蓄積のうちミズナラはその約88%を占め(梅木, 1998)、民有林より標高が高い国有林を含めるとその割合は、さらに高いと考えられる。

一方、ミズナラ資源の質について梅木(1998)は、樹木の大きさで質を評価した結果、優良の大径木中心に伐採が行われてきたため質は劣化していること、ミズナラは林冠下やササ層の下で更新しにくい大径木を取獲した後、適切に更新を図らなければ資源が枯渇するおそれがあることを指摘している。長内(1988)もミズナラの更新の困難さから、大径材利用後の資源問題を憂慮している。また、統計の数値には現れないが、国有林の現場従事者は、一様にミズナラの優良大径木が減少したことを指摘している。

近年、生物の遺伝子を資源とみなし、保存、利用していく考え方が広く浸透している。森林の遺伝資源の保存は、早くから取り組まれ、1964年から林野庁の林木育種場(現、林木育種センター)と営林(支)局(現、森林管理局)、都道府県が連携して、優良遺伝子群を確保するため、主要造林樹種を対象に「遺伝子保存林」の造成が進められてきた。また、1985年には、農林水産省ジーンバンク事業が開始され、1986年から、営林(支)局(現、森林管理局)において、国有林を対象とした林木遺伝資源の現地保存のために「林木遺伝資源保存林」の設定が進められ、平成9年度末現在、全国で320箇所、総計9,145haが保存されている(林木育種センター, 1999)。林木の場合、種子等生殖質の永久保存方法が未確立なこと、種子から成木に至る年数が長いこと、さらに森林を構成する様々な種の多様性および種内の遺伝的多様性を確保する観点から、現地保存を主体とした遺伝資源保存が進められている。

ミズナラについては、全国で34箇所、703haの林木遺伝資源保存林が設定されており、そのうち17箇所218haが北海道内にある。遺伝資源保存林は、生物遺伝資源保存林設定要領(昭和61年林野庁長官通達)に基づき設定されているが、ミズナラにおいて、今後とも遺伝的変異幅を減少させずに対象林分を保全していく手法は、未だ確立されていない。ミズナラの繁殖特性や更新特性、林分の遺伝的構造に基づいた、保存規模や保存手法の確立が必要である。また、ミズナラの持つ遺伝的変異の総量やその地理的分布に基づく適正な保存林の配置も早急に明らかにする必要がある。

天然林施業は、主として天然力によって森林を維持造成する施業と、天然力の活用のみにとどまらず、地表処理、刈出し、植込みなどの更新補助作業および間伐等保育作業など、森林に積極的に人手を加えることによって森林を造成する施業を含んでいる(北海道営林局, 1988)。これらは、主に種子生産以降に重点が置かれ、種子の発芽、実生の定着、更新個体の成長等を促進する施業方法である。ミズナラは、自家不和合性を有していると考えられており(河野ら, 1991)、次世代を生産するためには、他個体の花粉が必要である。また、林分内の保残個体密度が低すぎると次世代の遺伝的多様性が著しく減少する危険性がある。次世代の森林を形成する種子・稚樹の遺伝的な多様性を保ちつつ、遺伝的に優良な集団に誘導するためには、種子生産以前の情報も重要であり、雌雄花の生産特性や近交弱勢といった繁殖特性および林分内の遺伝的な構造を考慮して、保残木の選木やその配置、最適密度の決定等を行う必要がある。

3. 本論文の構成

本論文は、まず第1章で、雄花、堅果の生産、近交弱勢といったミズナラの繁殖特性について議論し、第2章で、ミズナラとカシワの種間交雑を対象として交雑和合性、種間雑種の形態的特性や稔性等について言及する。次に、第3章で、ミズナラを主とする天然林の遺伝的構造を解析し、第4章で様々な形質を用いた地理的変異について議論する。最後に、これらの解析結果から、第5章で総合考察を行い、ミズナラの遺伝資源保存や天然林施業の方策について言及する。

第1章 ミズナラの繁殖特性

第1節 目的および研究史

植物において繁殖とは、受粉・結実・種子散布などを行い、個体または個体群を再生産することと定義される（岩波生物学事典第4版，1996）。大多数の植物は、固着性であり、自ら移動することができない。一度定着した遺伝子は、その個体が死亡するまで同じ場所にとどまっていなければならない。しかし、遺伝子が唯一移動できるのが繁殖を行うときである。すなわち、繁殖特性は、その植物種の集団の遺伝的構造や地理的な変異を決定する最も重要な要因の一つと考えられる。本論文では、北海道のミズナラについて本章で繁殖特性、2章で天然林の遺伝的構造、3章で種間交雑、4章で地理的変異を扱っているが、繁殖特性は、2章以下の全てにわたってその基礎となっている。

ミズナラは、ブナ科コナラ属に属する落葉広葉樹で、我が国では、北海道から九州まで広く分布し（倉田，1964）、ロシアのサハリンや中国の東北地方および華北、朝鮮半島に分布するとされている（黄ら，1998）。北海道では、平地から山地にかけて広く分布し、森林の主要な構成要素となっている。ミズナラは、雄花と雌花の2つの異なった花序を同一個体内に着ける雌雄異花、雌雄同株植物である。雄花序は春先に展開するシュートの基部付近から下垂し、花粉は、風により媒介される。雌花序はシュート先端近くの葉腋から伸び、1～数個の雌花を着ける。林木育種センター北海道育種場周辺では、5月上旬からシュートの展開が始まり、5月中旬には雄花序が下垂し、5月下旬～6月上旬に雄花が成熟して花粉が飛散する。花粉の飛散期間は、およそ2～4日である（第3章第5節）。雌花は、花粉の飛散する2～4日前から開花し、花粉の飛散期間を挟んで10日から2週間程度受容期が続く（第3章第5節）。雌花は花被を欠き、子房は開花期では2～3mm程度である。開花終了後6月下旬～7月中旬頃になると子房は総苞に包まれ、雌花から幼堅果にかわる。7月下旬頃から子房の壁が成長して果皮となり、外部に露出する。この頃から堅果は急速に発達し、9月下旬に成熟する（河野，1991）。ミズナラの果実は、堅果（nut）と呼ばれ、乾燥した堅い種皮で種子がおおわれている。種子には胚乳（albumen）がなく（無胚乳種子）、子葉（cotyledon）がその大部分を占めている。また、果実が苞の変化した殻斗（cupule）に包まれるため殻斗果とも呼ばれている（久保田，1980）。コナラ属の樹種は、子房（ovary）の中に通常6個の胚珠（ovule）を持つ（Mogensen, 1965）が最終的に発達するのは、そのうちの1つで、希に2個以上の胚を持つ堅果もみられる（山根，1976；荒井，1979；斉藤，1980；宮崎ら，1986；門松，1988；倉橋ら，1991；生方ら，1998）。

Mogensen (1975) は、*Quercus gambelii*において、胚珠の中絶（abortion）には、4つのタイプがあることを報告し、これらのタイプは、最初に受精した胚珠が他の受精した胚珠の成長を抑制するか、受精を妨げる結

果であるとの考えを提出している。ミズナラは、他殖性の植物であり、自殖では、ほとんど堅果が生産されないことが報告されている（河野ら、1991）

ミズナラは、樹齢10年生程度でも雌雄花を着生することが報告されている（第3章第5節）。観察によると最も若齢で着果が認められた個体は、樹齢5年生であり、その2年後から雄花も着生し始めた。コナラ属の他樹種での若齢期の着花は、コナラの2年生苗で雌雄花の着生が認められ、クヌギでは、2年生苗で雌花の着生が、4年生苗で雄花の着生が認められている（橋詰、1983）。ミズナラの場合、堅果の生産量は、個体の大きさ（胸高直径）が増加するに従い、指数関数的に増加することが報告されており（Kanazawa, 1982）、本格的な堅果生産を行うのは、ある程度大径木となってからと考えられる。

ミズナラは、生産される堅果量に大きな年次変動（豊凶性）があり（Kanazawa, 1982；佐々木, 1978；佐々木, 1985a；佐々木, 1985b；佐々木, 1988；Imada *et al.*, 1990；小見山ら, 1991；倉本ら, 1995；滝谷ら, 1998）、開花期の気候との関連性が報告されている（倉本, 1996）。

9月下旬から10月上旬にかけて、堅果は樹冠下に重力落下する。堅果は、平均2～4gと重く（生方ら, 1997；生方ら, 1998）、大部分が樹冠下に落下するため（今田, 1969）、林冠の縁から遠ざかるに従い落下数が急激に減少することが報告されている（横山・向井, 1988；桜井, 1994）。落下した堅果は、カケスや齧歯類（アカネズミ、エゾリス、シマリス等）によって持ち去られ、一部は貯蔵される。宮木・菊沢（1986）は、アカネズミはミズナラの堅果を比較的近距离に分散貯蔵することを報告している。宮木（1988）は、ナラ類の散布様式をまとめており、ミズナラの堅果の最大散布距離は、齧歯類により数10m程度、カケスにより数100mとしている。また、Darley-Hill and Johnson（1981）は、アオカケスが、ナラ類の堅果を平均1.1km、最大で5kmまで運ぶことを報告している。Ducouso *et al.*（1993）は、このような長距離散布が、ヨーロッパや北米における最終氷期以降の植生の回復に寄与したとしている。我が国においても、最終氷期以降のブナの北進にホシガラスやミヤマカケスの関与が指摘されている（渡邊, 1994）。

本章では、これらの研究史を踏まえ、ミズナラの繁殖特性のうち、まず第2節で雄花の着生特性について議論する。上述したように本種の場合、堅果の生産やその散布に関する研究例は多いが、次世代の遺伝的構成にほぼ等しく関与する雄性（雄花および花粉）の動態についての研究は極めて少ない。遺伝育種的な天然林施業を確立するためには、雄花や花粉の動態を明らかにする必要があると考え、雄花について天然林内の着生量の年次変動や周囲の環境と着花性の関係を解析した。次に第3節では、ミズナラの雌花や堅果の生産特性を明らかにするために、環境分散と遺伝分散とを分離して解析することができる交配園の材料を用い、着果特性を調査し、堅果の生産性に対する遺伝的要因の大きさや、着果の変動パターンについて議論した。最後に第4節では、ミズナラの近交弱勢の強さを推定した。固着性の植物の場合、種子・花粉による遺伝子の流れが大きくない場合、遺伝的に近縁な個体が集中分布すると考えられる。このような状態では近親交配が起りやすく、その程度は、次世代の遺伝的構造に大きく関与すると考えられる。天然林を遺伝的に管理する上でも近交弱勢を解明することは重要である。

第2節 ミズナラ雄花の着生特性

I. はじめに

ミズナラを対象とした天然林の繁殖特性の研究では、雌花や種子（堅果）生産に着目したものが多くみられ

る (Kanazawa, 1982; Imada *et al.*, 1990; 倉本ら, 1995; 水井・橋場, 1995) が, 次世代集団の遺伝的構成に, 雌花や堅果とほぼ等しく関与する雄花や花粉の挙動についての研究はほとんどない。集団全体および個体別の雄花着生パターンを調査し, 天然林の花粉プールの組成やその年次変動を明らかにすることにより, 天然林を遺伝的に管理していく上で重要な情報が得られると考えられる。

本節は天然林を構成するミズナラ集団において, 個体ごとの雄花着生特性を調査することにより, 集団全体としての繁殖特性を明らかにすることを目的とした。また, 個体周囲の光環境等が雄花の着生特性に関与しているという仮説をたて, 周囲の個体密度と雄花着生特性の関係について調査した。

II. 調査地と調査方法

北海道千歳市郊外のミズナラを主とする天然林 (北海道森林管理局石狩森林管理署恵庭事務所291林班) に 200m×150m (3 ha) の調査区を設定した (図1-2-1)。1996年から1998年の3年間に, 調査区内および周辺の胸高直径10cm以上の全てのミズナラ328個体について, 位置, 胸高直径, 樹高を調査した。また個体別に雄花の着生状況を観察し, 以下のように1~3段階に区分した (着花指数)。

- 1: 全く着花なし, もしくは数個の雄花穂の着生が認められる。
- 2: 樹冠の一部に雄花穂の着生が認められる。
- 3: 樹冠全体に雄花穂の着生が認められる。

調査は毎年6月上旬に行った。なお, 予備的な調査として, 1995年に同調査区内でランダムに選定した185個体について同様のサンプリング調査を行った。

1996年~1998年の3年間にわたり着花指数がすべて1の個体 (以下, 着花不良個体と示す) と3の個体 (以下, 着花優良個体と示す) について, 分布様式をI δ -区画面積曲線 (Morishita, 1959) を用いて評価した。区画面積は, 最小区画を10m×10mの正方形とし, 区画が1段階大きくなるにつれ面積がおおよそ2倍になるように設定した。

また, 雄花着生特性と周辺環境との関係を明らかにするために, 着花優良個体および着花不良個体から半径5mの円内に存在する他の個体の樹種名, 本数および胸高直径を調査した。さらにこれらの周囲木を, 対象個体より胸高直径の大きな個体 (以下, 大サイズ個体と示す) と胸高直径が対象個体以下の個体 (以下, 小サイズ個体と示す) に区分し, 他個体の密度 (大サイズ個体または小サイズ個体の本数 / $5^2\pi\text{m}^2$) および胸高断面面積合計 (大サイズ個体または小サイズ個体の胸高断面面積の総和) をそれぞれの個体について求めた。

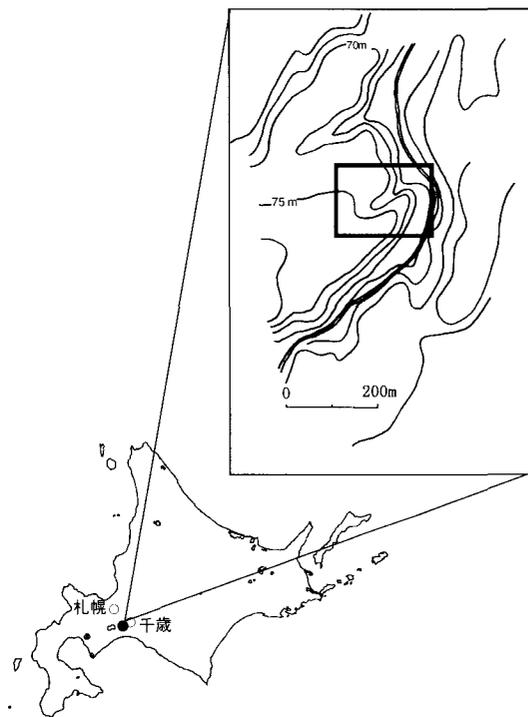


図1-2-1 調査区の位置図

□ が調査区。

Ⅲ. 結 果

1. 天然林内での雄花着生の年次変動

予備調査も含めた、1995年から1998年までの4年間における着花指数の頻度の変動を図1-2-2に示す。毎年ほぼ半数の個体が着花指数3となり、雄花が大量に着生していた。図1-2-3に1996年から1998年までの3年間にける着花指数の変動状況を示す。3年間指数の変わらなかった個体は20%以下にとどまり、80%以上の個体が3年間で2つ以上の異なる着花指数を示した。4年間のうち一度は指数3となった個体は、全体の75%程度であった。

調査区の中で3年間にわたりほとんど雄花を着生しなかった着花不良個体が19本、毎年大量に雄花を着生し

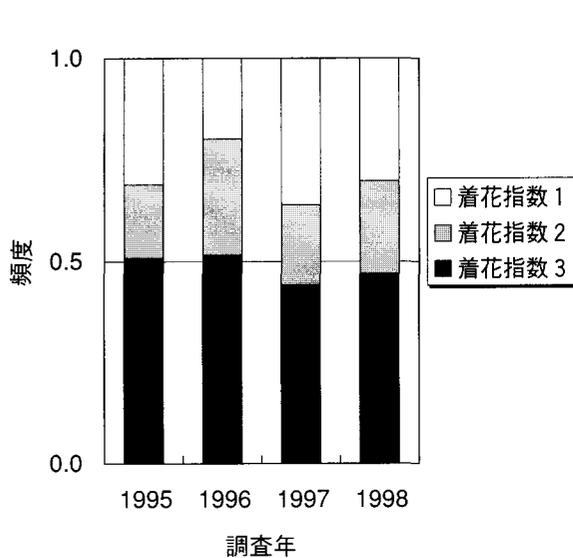


図1-2-2 着花指数別個体数割合の4年間の変動

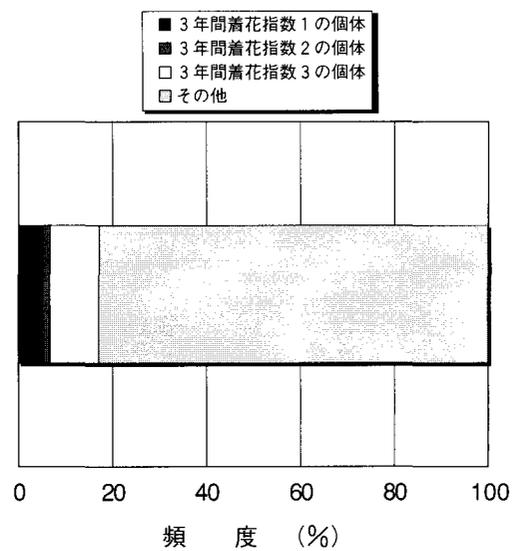


図1-2-3 着花指数の3年間の動向 (1996年~1998年)
1995年は、サンプル調査のためこの集計から除いた。

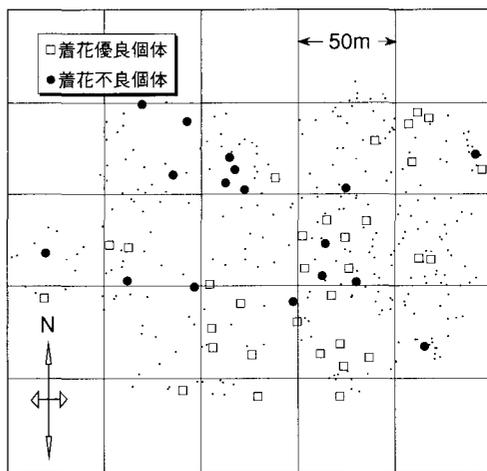


図1-2-4 着花優良個体および不良個体の位置図

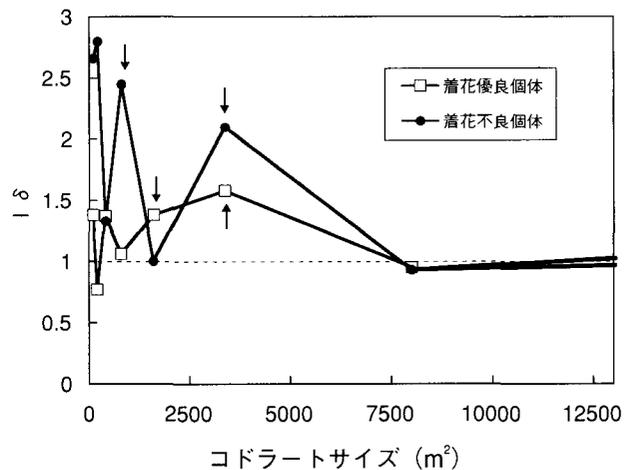


図1-2-5 着花優良個体および不良個体の $I\delta$ -区画面積曲線
矢印は、ランダム分布と有意差が認められた $I\delta$ 値を示す (F -検定; $p < 0.05$)。

た着花優良個体が33本存在した。これらの個体の位置を図1-2-4に示す。全体的にみると調査区の北西部分に着花不良個体が多く、南部や東部に着花優良個体が多い傾向がみられた。両タイプの個体についてI δ 値と区画面積の関係を図1-2-5に示す。F-検定の結果、着花優良個体は40m \times 40m (1,600m²)と56m \times 56m (3,136m²)で、着花不良個体は、28m \times 28m (784m²)と56m \times 56m (3,136m²)でI δ 値がランダム分布と有意差を示し、集中分布することが認められた。

2. 雄花着生と周囲の環境

雄花着生と個体サイズとの関係を明らかにするために、着花優良個体と着花不良個体の胸高直径を比較した。両者の胸高直径階別分布を図1-2-6に示す。平均胸高直径は、それぞれ、39.9cmと33.3cmとなり、t-検定の結果、両者の平均値間には、5%水準で有意差が認められ、着花優良個体は着花不良個体に比べ個体サイズが有意に大きいことが示された。

着花優良個体と着花不良個体について、その周囲に生育する他個体の密度および胸高断面積合計を比較した。着花優良個体の周囲の密度の平均値は、大サイズ個体が0.3本/5² π m²、小サイズ個体が2.6本/5² π m²であった。一方、着花不良個体では、前者が1.6本/5² π m²、後者が3.6本/5² π m²であった(図1-2-7)。大サイズ個体、小サイズ個体および全個体(大サイズ個体+小サイズ個体)の全てにおいて、着花優良個体は着花不良個体に比べ、有意に周囲木の数が少ない結果が得られた。Mann-WhitneyのU検定において、大サイズ個体と全個体については0.1%水準、小サイズ個体については、1%水準で有意差が認められた。周囲木の胸高断面積合計は、着花優良個体では、大サイズ個体が362cm²、小サイズ個体が926cm²、合計1288cm²であったが、着花不良個体は、それぞれ1580cm²、1234cm²、2814cm²であった(図1-2-8)。Mann-WhitneyのU検定の結果、着花優良個体と着花不良個体の間に有意差が認められた(大サイズ個体と全個体については0.1%水準で、小サイズ個体については5%水準で有意)。

着花優良個体と着花不良個体について、周囲の全個体密度と大サイズ個体密度の関係を図1-2-9に示す。着花優良個体は、周囲の全個体密度が5本/5² π m²以下、大サイズ個体密度が1本/5² π m²以下の範囲にあった。

調査木の胸高断面積とその周囲の全他個体の胸高断面積合計との関係を図1-2-10に示す。周囲の他個体の胸高

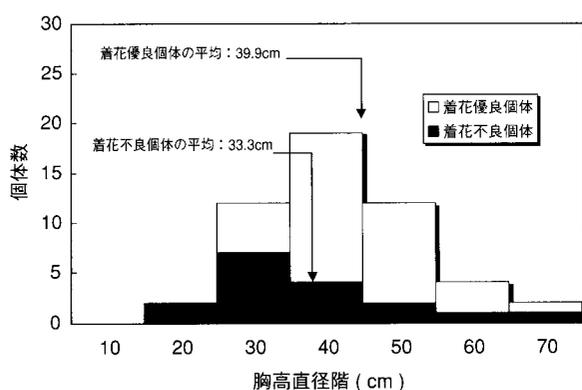


図1-2-6 着花優良個体および不良個体の胸高直径階別の分布
雄花着生優良個体と不良個体間に有意差が認められた
(t-検定; $p < 0.05$)。

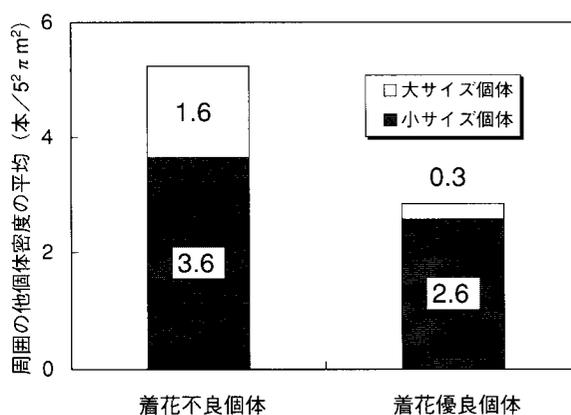


図1-2-7 着花優良個体および不良個体における周囲の他個体の密度
グラフ中の数字は、周囲(半径5m以内)の他個体密度の平均値を示す。

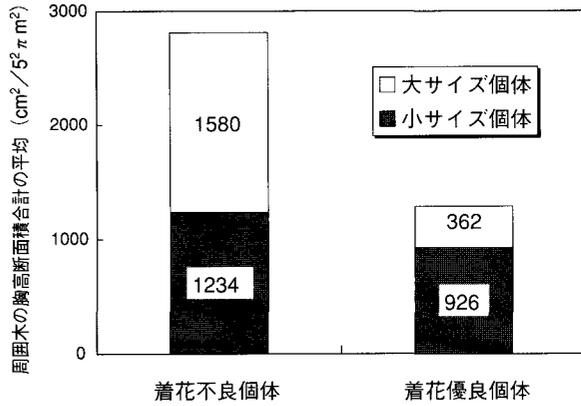


図1-2-8 着花優良個体および不良個体における周囲木の胸高断面積合計の平均

グラフ中の数字は、周囲（半径 5 m以内）の胸高断面積合計の平均値を示す。

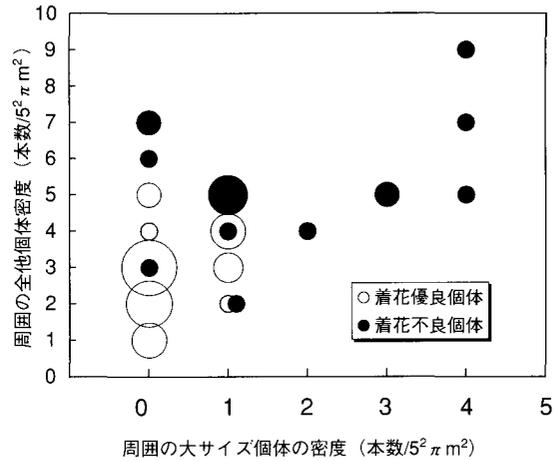


図1-2-9 着果優良個体および不良個体における周囲木の全個体密度と大サイズ個体密度の関係

グラフ中の円の大きさは個体数を示し、最大の円が10個体、最少の円が1個体を表している。

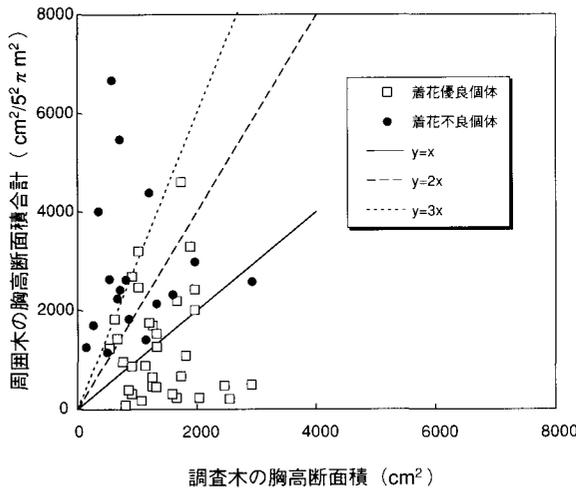


図1-2-10 着花優良個体および不良個体の胸高断面積とその周囲木の胸高断面積合計の関係

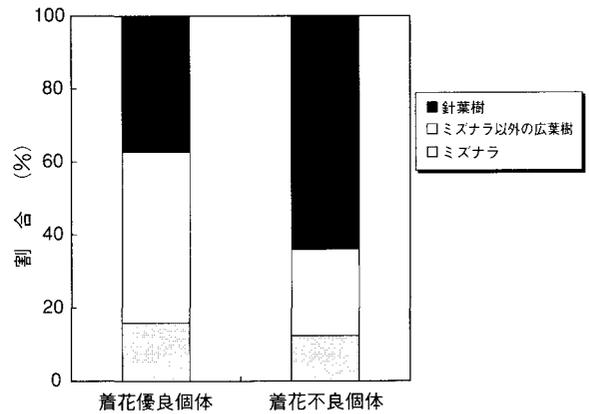


図1-2-11 着花優良個体および不良個体における周囲木の樹種の割合

断面積合計は、着花優良個体では、調査木の胸高断面積の3倍以内に、着花不良個体では、1例を除き、調査木の胸高断面積より大きかった。周囲木の胸高断面積合計が調査木の胸高断面積と同程度 ($y=x$) からその3倍 ($y=3x$) 程度までの範囲には、着花優良個体と着花不良個体の両方が存在した。

着花優良個体および不良個体の周囲木の樹種割合を針葉樹、広葉樹別に示した(図1-2-11)。着花不良個体では、針葉樹(大部分アカエゾマツ、まれにエゾマツ)の比率が高く、着花優良個体では、ミズナラとミズナラ以外の広葉樹(イタヤカエデ、アズキナシ、ウダイカンバ等)の比率が高かった。周囲の全個体を広葉樹と針葉樹に分けて、重み付けした角度変換値を用いた分散分析(Campbell, 1974)により着花優良個体と不良個体を比較してみると、両者間に1%水準で有意差が認められた。つまり、着花不良個体の周囲には、着花優良個体の周囲に比べて針葉樹が多く、広葉樹が少ないという結果が得られた。

IV. 考察

着花指数3を雄花の豊作、指数1を凶作とし、指数3の個体のみで年毎の交配に関与する花粉プールが形成されると仮定すると、個体の入れ替わりはあるが、毎年およそ集団全体の半数の個体が花粉プールの組成に関与していることがわかった。雄花生産は個体レベルだと年次による豊凶が激しいが、集団レベルでは安定しているといえる。予備的な調査も含め、この4年間で一度も大量に雄花を着生しなかった個体は、全体の24%にとどまった。より長期間で考えると、この割合はさらに減少し、ほとんどの個体が一度は雄性として交配に関与する可能性を持つことになると考えられる。ミズナラの林分単位の堅果生産量は、大きな年次変動があることが報告されている (Imada *et al.*, 1990; 倉本ら, 1995)。しかし、雌花数の年次変動は堅果数のそれに比べ小さく、堅果生産量は雌花数ではなく、結果率に依存していることが報告されている (菊沢, 1991; 河野ら, 1991; 倉本, 1993)。本報告は、雄花生産の絶対量の年次変動を示したものではないが、今回の結果から、林分全体の雄花量の年次変動も小さいことが示唆された。

着花優良個体と着花不良個体の空間分布は、どちらも1辺が30m~60m程度の小区画で有意な集中性を示した。当調査区のアイソザイム遺伝子を用いた遺伝的構造の解析において、直径が40m~50m程度の遺伝的なパッチ構造があることがわかっている (第2章第2節)。雄花着生特性において、環境の影響のみでなく、家系による着花性の差といった遺伝的な影響も今後、検討する必要がある。

植物個体間の資源をめぐる競争は、大きいサイズの個体から小さいサイズの個体への1方向的な競争と相互に影響する双方向的競争があるとされ、光をめぐる競争は主に1方向的な競争、土壌中の水分や養分をめぐる競争は主に双方向的競争といわれている (隅田, 1996)。周囲の個体の存在は、個体周囲の光環境と密接に関連し、特に自己よりも大きなサイズの個体や常緑樹が光環境に及ぼす影響は大きいと考えられる。今回の調査では、着花不良個体が全体の5%程度みられたが、これらは着花優良個体に比べ周囲の大サイズ個体の密度および胸高断面積合計が有意に大きいことがわかった。また、着花不良個体の周囲は、優良個体の周囲に比べて有意にアカエゾマツ等の常緑針葉樹の比率が高かった。以上から、ミズナラの雄花の着生に周囲の光環境が大きな影響を及ぼしていることが示唆された。また、周囲にある小サイズ個体の密度および胸高断面積合計においても、着花不良個体では、着花優良個体に比べ有意に大きいという結果が得られたことから、雄花の着生には光環境のみでなく、土壌養分や水分といった要因も関与している可能性も示唆された。

着花不良個体は、着花優良個体に比べ有意に胸高直径が小さかった。このことは、着花不良個体の周囲は個体密度が高く、これらとの競争によって成長が抑制されていることが原因と考えられる。

ミズナラは、非常に長命な樹種であり (渡邊, 1994)、台風などによる攪乱等が原因となり極めて長い周期で更新するとされている (佐野, 1985)。また、稚樹の初期成長速度は遅く (渡邊, 1994)、林内の上木が取り除かれても、林床の稚樹は、雑草木の繁茂が加速するため、生存しにくくなる (桜井, 1996)。このため、母樹保存法や現在北海道の天然林で一般的に行われている択伐等の施業では、更新は難しいとされている (桜井, 1996)。このような理由からミズナラの天然更新には、人工下種等の必要性 (北海道営林局, 1995) や伐採前に地拵えを行い、稚樹を多数定着させてから上木を伐採するという方法が提唱されている (谷本, 1986; 桜井, 1996)。このような伐採前地拵えといった施業を行う上で、林分内の雄花の着生状況を個体ごとにコントロールすることができれば、交配に関与する花粉プールを目的に応じて変えることができる。例えば、林木遺伝資源保存林等の遺伝的多様性の維持を目的とした林分では、なるべく多くの個体が雄花を着生するような環境をつ

くり、また、優良形質個体の生産を目的とした林分では、特定の個体に雄花を着生することができる環境をつくり、また、周辺個体を伐採することにより、対象となる個体の光や養分をめぐる環境が改善され、雄花の着生のみならず、堅果の着果・結実が促進されることも期待できる。

第3節 ミズナラの堅果生産

I. はじめに

ミズナラは、近年まで人工造林は少なく、更新のほとんどを天然更新に依存してきたが、最近広葉樹造林が見直され、一般民有林でミズナラの造林が急増している（梅木，1998）。人工造林を進める上で種苗を安定的かつ計画的に供給することは重要である。しかしミズナラは、生産される堅果量に大きな年次変動（豊凶性）があることが知られている。さらに堅果は、高含水率かつ短期発芽型の種子であるため長期貯蔵が難しいこと（森，1998）から、豊作年に大量に堅果を採取し凶作年に配分することが困難であり、年によって堅果や種苗の生産量が大きく変動することが種苗生産の大きな障害となる。

豊凶（masting, mast seeding）とは、植物集団において、ある長期の間隔において同調して種子が生産される現象である（Kelly, 1994）とされている。今までに様々な樹種について種子生産の年変動が報告されているが、北海道の落葉広葉樹35種の結実状況を長期にわたって調査した報告（水井，1993）によると、樹種により明確に豊凶を示すものや不明確なものがあることが示されている。

豊凶現象に関する仮説について、Norton and Kelly（1988）は、「資源適合仮説」（resource matching hypothesis）と「大量生産の経済説」（economy of scale）とに大別している。「資源適合仮説」は、個体の獲得した資源量の多少に応じて種子生産が行われているとするもので、気象条件の変動に対応して種子生産が変動するとする説（気象追従説）はこの説に包含される。「大量生産の経済説」は、種子や花を大量に生産することが極めて有利であるため、毎年少量ずつ着生させるより、数年に一度大量生産を行っているとする説である。これには、大量の種子を生産することによって捕食者から回避するという説（逃避仮説または捕食者飽食仮説）、同調して大量に花生産を行うことで受粉効率が高まり大量結実につながるという説（受粉仮説）、種子生産量が多いほど散布者による散布距離と運搬数が増大し、豊作が種子散布を促進させるという説（散布説）を含む。

既往の研究によると、ミズナラの堅果生産量の年次変動について、地域的に同調すること（倉本ら，1995；Imada *et al.*, 1990）、周期性が存在しないこと（倉本ら，1995）、北海道内の地域間に違いがあること（水井・橋場，1995）、またミズナラの着果量と開花期の降水量に負の相関があること（倉本，1996）などが報告されている。このように堅果の豊凶パターンや豊凶の発生機構についての研究が進められているが、堅果生産量を予測するまでには至っておらず、ミズナラの着果性に関与する遺伝的要因の解析もほとんど行われていない。

ミズナラの着花・結実に関与する要因を解明し、堅果生産量を予測できれば、人工造林用の種苗生産を安定化させるだけでなく、天然更新をより効率的に行うことも可能となる。ブナでは、着果予測と連動した地かき作業による天然更新が実用段階にある（小山ら，1999）。

本節では、ミズナラ堅果の着果変動の要因や天然林内での堅果生産特性を解明するために、北海道内各地から選抜された精英樹等が植栽されているミズナラ実験交配園（以下、交配園と示す）を用いて、雌花の結実過程と堅果生産数の年次変動を調査した。交配園は、材料がクローン化されランダムに植栽されているので、各クローンに作用する局所的な環境要因が取り除かれ、マクロな環境要因と着果性の関係を解析するのに適して

いる。また遺伝的背景および生育環境が異なる北海道内各地から選抜されたクローンが同一環境下に植栽されているので、着果の年次変動パターンの地域的な違いを解明することが可能である。更に将来、当交配園でミズナラの着果性をコントロールする技術が確立されれば、採種園にその技術が応用できることも勘案し、交配園を調査対象とすることとした。

採種園は、多くのクローン間で任意交配を行わせ、その次代を一般造林用種苗に用いることにより、次代集団の遺伝的変異幅を保ちつつ、遺伝的水準を向上させていくために設定されている（田島，1991）。今まで様々な樹種の採種園で種苗の遺伝的な劣化の原因となる自殖率の推定が行われた（田島，1979；茶屋場，1977；清藤，1978；生方ら，1994）が、採種園産種子の遺伝的変異幅についての調査はほとんどない。豊凶と種子の遺伝的変異幅との関係を明らかにする基礎資料を得るため、堅果の遺伝的な多様性を評価し、その年次変動の調査を行った。

II. 材料と方法

精英樹や形質優良木のクローン保存、および採種園の管理技術の開発を目的としたミズナラ実験交配園が林木育種センター北海道育種場内（北海道江別市）に1992年に設定されている。この交配園には、北海道内各地から選抜され、つぎ木で増殖したミズナラ62クローンが各12~14個体（ラメート）ずつ単木混交植栽されている。各クローンは、幹の通直性、真円性等の形態的特性および成長性で選抜されており、堅果の生産性に関してはランダムに選択された材料とみなすことができる。1998年の10月時点での平均樹高は、1.39m、標準偏差は0.39mである。

この交配園で以下の1、2の調査と解析を行った。

1. 雌花の結実過程の解析

1993年に雌花の開花時期から9月下旬まで、ほぼ1ヵ月おきに着生している全ての雌花・堅果数を個体別に数え、クローン別に集計した。調査日は、6月4日（開花期）、7月13日、8月16日、9月22日（堅果採取）の4回である。なお、着生していても全体が褐変した雌花や堅果は、枯死とみなし除外した。雌花・堅果数の調査データを用いて以下の解析を行った。

- ① 各調査日におけるクローン別の雌花・堅果数を50個単位の9階級に分けて頻度分布を求め、2調査時期ずつ2×9分割表によるMann-WhitneyのU検定により分布のパターンを比較した。
- ② 各調査時期間の相関係数、各調査時期の雌花・堅果数の堅果生産数に対する回帰式および決定係数を求めた。なお決定係数は、寄与率とも呼ばれ、従属変数の総平方和のうち、回帰式で説明される部分の割合であり、相関係数の二乗に等しい（藤井，1988）。
- ③ クローンごとに着生した雌花数とその結果率（堅果生産数／6月4日の雌花数）および7月13日までの残存率（7月13日の着生数／6月4日の雌花数）と結果率との相関係数を求めた。

2. 堅果生産量の年次間変動の解析

- ① 1993年から1998年までの6年間、毎年9月下旬に交配園内で成熟した堅果を個体別に全て採取し、個数を数えた。6年間の堅果生産数を個体ごとに集計し、堅果数の少ない個体から順位をつけ、堅果生産数のクローン間差をKruskal-Wallisの検定法により検定した。この検定法は、観察値が順位変数のとき、完全無

作為配置でいくつかの試料を同時に比較するのに最も適している（石居，1975）とされている。

- ② 各クロンの堅果生産数の年次変動パターンの同調性を明らかにするため，6年間のうち4年以上堅果を生産した34クロンについて，クロンごとに堅果生産数の少ない年次から順に1～6の順位をつけ，全てのクロン間の組合せについてSpearmanの順位相関係数を求めた。ミズナラにおいては，日高，大雪および北見山系を境に北海道の東西両地域間で各種形質に差があること（第4章）から，有意な順位相関係数が認められたクロン間の組合せを地域内と地域間に分け， χ^2 検定により適合性の検定を行った。
- ③ 北海道北部地域での13年間の堅果量と開花時期の降水量との間に負の相関があることが報告されている（倉本，1996）ことから，交配園の全クロンおよび6年間のうち4年以上堅果を生産した34クロンについて堅果数と開花期（5月下旬～6月上旬）の降水量との相関係数を求めた。気象データは，調査地近郊の江別市西野幌の降水量データ（札幌管区気象台，1993～1998）を使用した。
- ④ 堅果生産の多様性を年次ごとにMacArthurの多様度指数（ H' ）で比較した。 H' は情報理論のシャノン・ウィーナー関数であり，起こりうる確率が $p_1, p_2, p_3, \dots, p_n$ であるような一組の事象（1, 2, 3, ..., n）があり，一つの事象が発生したとき，それがどの事象であるかの不確定性の程度を表している。この指数は生態学の分野では，ある調査区や地域の種の多様性を評価するために用いられており，以下の式で求められる（伊藤，1994）。

$$H' = -c \sum (N_i / N) \log_2 (N_i / N)$$

ここで， $c = 1$ ， N_i ： i 番目のクロンの堅果数， N ：全堅果数である。

なお，堅果生産に関与した花粉は，採種園全体の共通の花粉プールからランダムに選択されたとし，クロン間の遺伝的な違いは全て雌性クロンに由来するとみなして H' を計算した。またクロン間の血縁関係は考慮していない。

Ⅲ. 結果

1. 雌花の結実過程

当交配園において1993年には51クロンで雌花の着生が確認された。1クロン当たりの平均着花数は742個（最少0，最多369個）であった。生産された堅果数は，1クロン当たり13.9個（最少0，最多100個）であった。調査時期ごとの落下した雌花・堅果の割合と堅果生産率を図1-3-1に示す。着生した雌花のうち約6割が開花後約1ヵ月の間に落下し，生産された堅果数は，雌花数の約2割にとどまった。

各調査時期におけるクロン別の雌花・堅果数の頻度分布を図1-3-2に示す。全ての調査時期において雌花・堅果数が1～49個のクロンが最も多かった。6月4日とそれ以降の3調査時期の間の頻度分布に有意差が認められた（ 2×9 分割表による U -検定； $p < 0.01$ ）が，7月13日以降の3調査日間では，有意差は認められなかった（ 2×9 分割表による U -検定； $p > 0.05$ ）。クロン別の雌花・堅果数における調査時期間の相関係数および決定係数を表1-3-1に，堅果生産数と各調査時期の雌花・堅果数との関係を図1-3-3に示す。全ての相関係数は1%水準で有意であった。各調査時期における雌花・堅果数の堅果生産数に対する回帰式の決定係数は，6月4日では0.153であるが，7月13日には0.684に急激に上昇し，8月16日は0.826だった。

クロン別の雌花数と堅果の結果率との関係を図1-3-4に示す。雌花が多く着生したクロンは結果率が低い傾向がみられるが，全体として雌花数と堅果の結果率の間に有意な相関は認められなかった（相関係数0.239；

$p > 0.05$)。しかし7月13日時点の堅果の残存率と結果率との関係を図1-3-5に示したが、この時点で堅果の残存率が高いクローンは、最終的な結果率も高い傾向がみられ、両者の間には有意な相関が認められた (相関係数 0.724 ; $p < 0.01$, 決定係数0.525)。

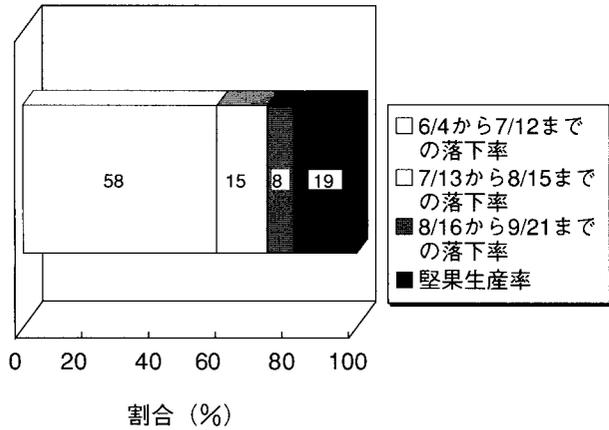


図1-3-1 時期別の雌花・堅果の落下率と堅果生産率
グラフ上の数字は、割合を示す。

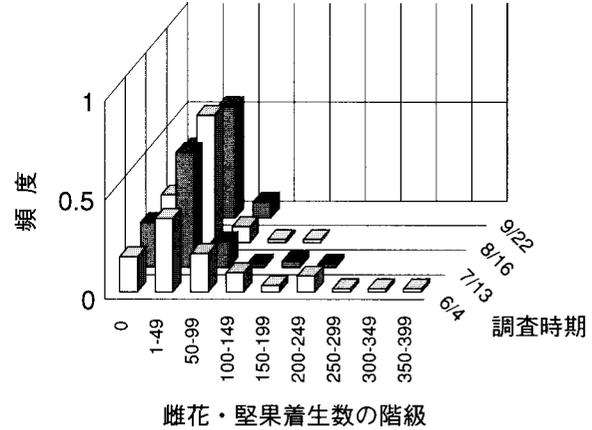


図1-3-2 調査時期別の雌花・堅果数の階級別頻度分布

表1-3-1 雌花・結果数の調査日間の相関係数および決定係数

調査日	6/4	7/13	8/16	9/22
6/4		0.485	0.378	0.153
7/13	0.696		0.913	0.684
8/16	0.615	0.956		0.826
9/22	0.392	0.827	0.909	

注) 斜線より上が決定係数、下が相関係数。
全ての相関係数に1%水準で有意差あり。

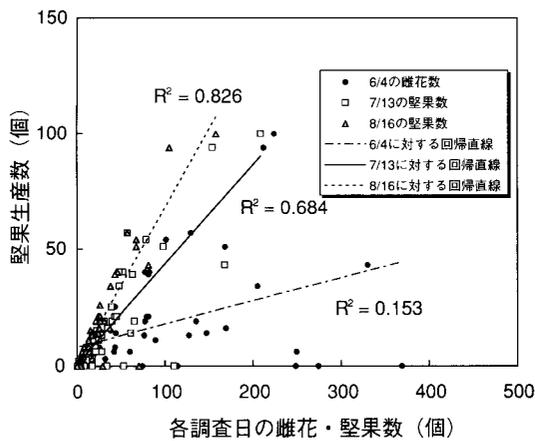


図1-3-3 クローン別の堅果生産数と各調査時期の雌花・堅果数との関係

R^2 は、回帰直線の決定係数を示す。

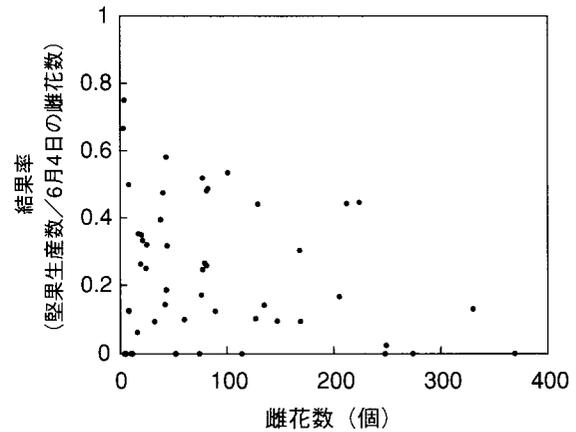


図1-3-4 クローン別の雌花数と堅果の結果率との関係

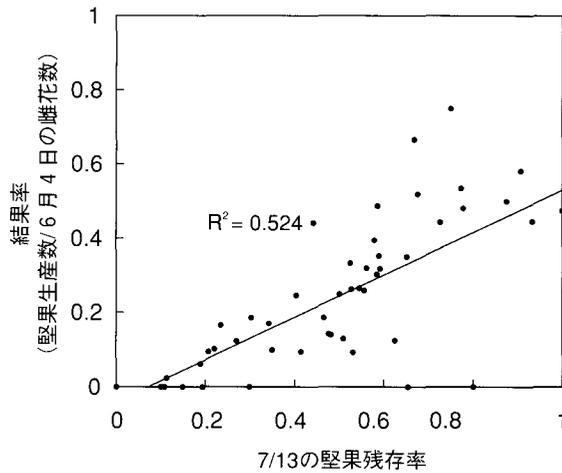


図1-3-5 クローン別の7/13の堅果の残存率と結果率との関係
R²は、回帰直線の決定係数を示す。

2. 堅果生産量の年次間変動

交配園全体の6年間の堅果生産数の推移を図1-3-6に示す。各年次の平均堅果数は588個、最高は1996年の983個、最低は1995年の313個であり、年次間におよそ3倍の差がみられた。各年次の堅果生産数、平均堅果重、堅果の平均長径および平均短径を表1-3-2に示す。堅果生産数と平均堅果重との間に有意な相関は認められなかった(相関係数0.334; $p > 0.05$)。各クローンの6年間の合計堅果生産数の階級別の分布を図1-3-7に示す。最多は、541個で、全く堅果を生産しなかったクローンが9クローンあった。堅果生産数が1~99個のクローンが42クローンあり、全体の68%を占めていた。6年間の合計堅果生産数についてクローン間に有意差が認められた(Kruskal-Wallisの検定法; $p < 0.001$)。毎年堅果生産がみられたのは11クローンあり、4年以上堅果を生産したクローンは、34クローンで、全体の約半数にのぼった。

順位相関による分析では、4年以上堅果を生産した34クローンを対象とした。交配園全体の年次変動パターンと有意な相関が認められたクローンはなく、クローン間の全561組合せのうち、変動パターンに有意な正の相関が認められたのは13組合せ、有意な負の相関が認められたのは5組合せであった。有意な正の相関が認められた組合せの地域別の内訳を表1-3-3に示す。地域(東部地域および西部地域)を同じくするクローン間がそれぞれ3組合せおよび8組合せの計11組合せ、地域を異にするクローン間が2組合せだった。対象とした34クローンのうち、東部地域産が11クローン、西部地域産が23クローンであり、ランダムに相関が生じるとすると地域内と地域間の組合せ数の比率は、308:253の割合になる。この比率との適合性の検定を行ったところ、観察値と期待値の間に有意差が認められ(χ^2 検定; $p < 0.05$)、地域を異にするクローンの組合せで年次変動パターンが同調しているものは、有意に少ない結果が得られた。

交配園全体の6年間の合計堅果生産数と各年度の開花期(5月下旬から6月上旬まで)の降水量との関係を図1-3-8に示す。両者間に有意な相関は認められなかった(相関係数-0.288; $p > 0.05$)。また、4年以上堅果を生産した34クローンにおいても、クローンごとの堅果数と開花期の降水量との間に有意な相関が認められたものはなかった。

堅果生産のMacArthurの多様度(H')の推移を図1-3-9に示す。堅果生産量の最も少なかった1995年が3.42と

最も低く、1994年が最も高く4.69であった。多様度と堅果生産量との相関は認められず（相関係数0.588； $p>0.05$ ），堅果を生産したクローン数との相関が認められた（相関係数0.892； $p<0.05$ ）。

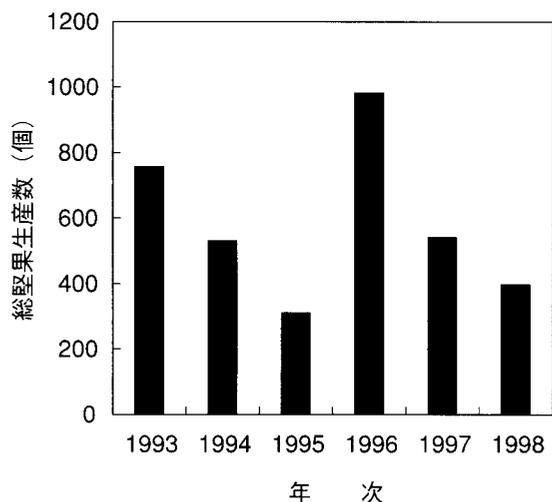


図1-3-6 交配園全体の堅果生産量の推移

表1-3-2 生産年次別の堅果の形質

生産年	1993	1994	1995	1996	1997	1998
堅果生産数	759	532	313	983	542	399
平均堅果重 (g)	2.42	3.21	2.53	2.26	2.31	2.47
平均長径 (mm)	18.5	21.1	19.0	18.0	19.0	18.5
平均短径 (mm)	13.8	15.2	13.8	13.7	13.4	13.8

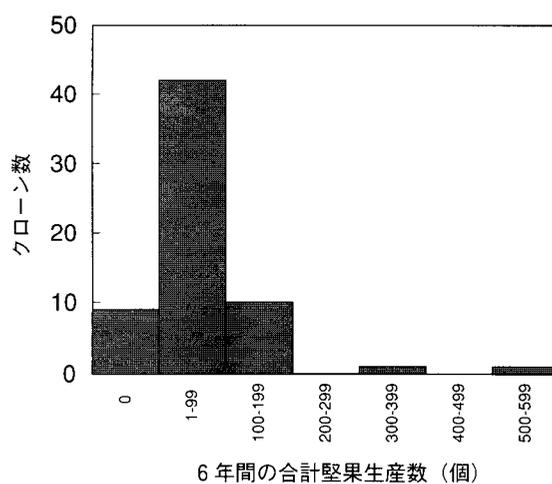


図1-3-7 各クローンの6年間の合計堅果生産数の頻度分布

表1-3-3 堅果生産の年次変動が有意に同調した数の内訳

選抜地域	4年間着果したクローン数	地域内で同調した組合せ数	地域間で同調した組合せ数
東部地域	11	3 (55)	2 (253)
西部地域	23	8 (253)	
計	34	11 (308)	2 (253) *

注) カッコ書きの数字は、クローンの組合せの総数を示す。
 * : 地域間と地域内の組合せ数との間に有意義が認められたことを示す (χ^2 検定; $p < 0.05$)。

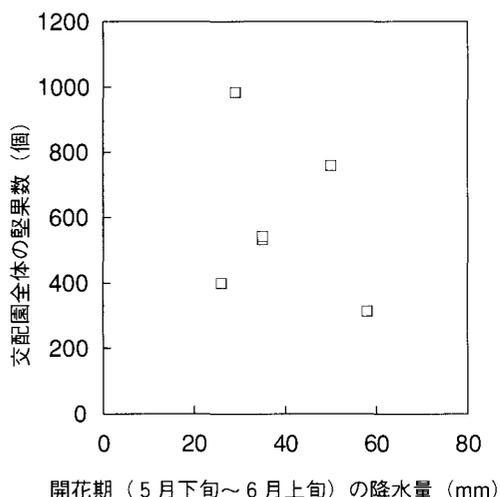


図1-3-8 交配圏全体の堅果生産数と開花期の降水量との関係

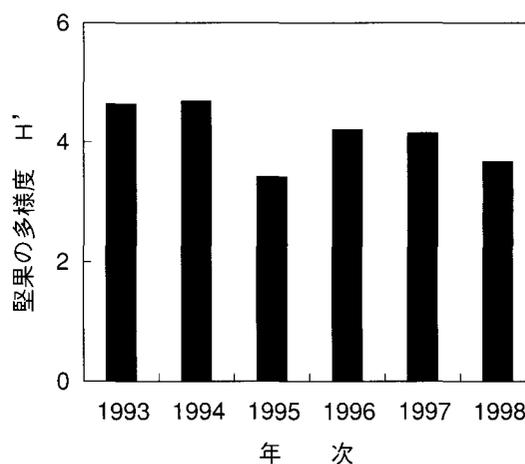


図1-3-9 堅果生産の多様度の推移

IV. 考 察

同一個体の雌花数と堅果数の数年間にわたる調査から、ミズナラの雌花数と生産される堅果数の間に関係がないことが報告されている (菊沢, 1991; 倉本, 1993)。本節の単年度における同一環境下に植栽されたミズナラのクローンについては、クローンごとの雌花数と生産堅果数の間に有意な相関が認められたが、決定係数が低いので雌花数から生産堅果数を予測することは困難である。また、雌花数と結果率との間に相関が認められないことから、雌花数は生産される堅果数の上限を決定するが、生産堅果数や結果率に影響を及ぼさないことが示唆された。ミズナラの堅果は、発達の初期段階に大部分が落下することが知られている (菊沢, 1991; 倉本, 1993) が、本調査においても雌花開花から堅果採取までの約3.5カ月のうち、最初の1カ月間に全雌花数の約6割が落下した。開花した年に堅果が成熟するコナラ属の樹種では、受粉から受精まで1~2カ月程度かかるとされている (Ducousso *et al.*, 1993)。また、開花期に雌花を袋で覆い受粉させない処理を行った場合の初期落下率は、自然受粉と有意な差が認められなかった (生方ら, 未発表)。このことから、開花後の初期段階で

の落下は、受粉や受精に起因していないことが示唆された。受粉や受精の失敗、受精胚の死亡などが堅果落下に影響を及ぼすのは、7月中旬以降と考えられる。

倉本（1996）は、ミズナラの堅果数の予察を行う場合には、開花1ヵ月後の結実数を指標とするのが妥当であるとしている。本報告においても、7月13日に着生していた幼堅果数の成熟堅果数に対する回帰式の決定係数は0.684となり、採種園全体の成熟堅果数は7月中旬の幼堅果数からある程度推定可能なことがわかった。異なる材料を用いて同様の調査を行い、回帰係数や決定係数の変動を明らかにできれば、7月中旬に最終的な成熟堅果数を予測することも可能となると考えられる。

生方ら（1994）は、当交配園において、単年度の雌花数や堅果の生産過程にクローン間差があることを報告している。クローンごとに堅果生産の豊凶パターンが異なる場合、単年度の結果のみでは、クローンの堅果生産能力を正当に評価できない危険性がある。本節で6年間の積算堅果生産数についても有意なクローン間差が認められたことから、同一の環境条件のもとでも遺伝的な要因により、クローン間で堅果生産能力に差があることがわかった。

ミズナラの堅果生産の周期性や同調性については、北海道東部の九州大学北海道演習林内の約1 km離れた2林分間での同調性（Imada *et al.*, 1990）、北海道北部の北海道大学雨龍地方演習林内の3林分間での同調性と非周期性（倉本ら, 1995）が報告されている。水井・橋場（1993）は、北海道内全域の2年間にわたる調査から、堅果の豊凶に地域性が認められることを報告している。北米のコナラ属では、種に固有の周期性があるとする報告（Sork *et al.*, 1993）と周期性は認められないとする報告（Koenig *et al.*, 1994）がある。本節では、調査期間が6年間と短いことから、周期性の解析は行っておらず今後の課題と考える。同調性については、交配園全体の生産堅果数の変動と同調していたクローンはなく、クローン間の同調性は低かった。クローン間で同調性が認められた組合せ数は、クローンの選抜地域を北海道を東西に分割した場合、地域を異にする組合せが有意に少なかった。また、開花期の降水量と交配園全体およびクローンごとの着果量の間には相関が認められなかった。ミズナラでは、北海道の東西地域間で、葉緑体DNAタイプの頻度（第4章第3節）、葉および堅果の形質（第4章第5節）、開葉時期（第4章第6節）が異なり、カシワとの雑種性が地域間差を生じさせた一因と考えられている。本節の着果変動パターンにおいて、東西地域間でクローン間の同調性が特に低いことが示されたが、環境要因に対する着果性の反応においても地域間で遺伝的分化が存在する可能性が示唆された。ミズナラ堅果の豊凶の地域性には、地域間の環境の違いだけでなく、着果性の遺伝的な違いも影響していると考えられる。

堅果生産の遺伝的な多様性を高めるためには、採種園におけるクローン数を増やすこと、またクローンの堅果生産量を均一にすることが必要である。採種園における種子生産量についてクローン間のばらつきが大きいことがアカエゾマツ（林ら, 1994）やトドマツ（石井・渡並, 1996）で報告されている。スギでは、ジベレリン処理により着花を促進する技術が確立している（田島, 1991）が、多様度の高い堅果を安定的かつ計画的に生産するためには、ミズナラにおいても着果をコントロールする技術を開発する必要がある。

第4節 ミズナラの近交弱勢

I. はじめに

近交弱勢（inbreeding depression）とは、近親交配によってもたらされる繁殖力や代謝能力に関係した形質

の表現型の減少である (Falconer, 1989)。動物や他家受精植物において特に顕著であるが、弱勢の程度は種類や系統によってかなり違う。また、一般に近親交配は適応度を減少させる傾向があることがわかっており、適応度と密接な関係のない形質は、ほとんどかあるいは全く変化しない (Falconer, 1989) といわれている。

近交弱勢が起こるメカニズムを説明する仮説には、超優性説と有害突然変異説 (連合超優性説) がある。いずれも近親交配によるホモ接合体の増加が近交弱勢の原因であるという点では共通している。超優性とは、1 遺伝子座でみてヘテロ接合がホモ接合より適応度が高い場合のことをいい、超優性説は、このような遺伝子が多くあるか、あるいは個体の適応度に大きな影響を持つために、近交弱勢が起きるとする説である。これに対して有害突然変異説は、個々の遺伝子座では、超優性はなく、正常な表現型を示す対立遺伝子と適応度を低下させる有害な対立遺伝子があり、この有害な対立遺伝子がホモ接合となることにより近交弱勢が起きるとする説である。最近では、弱度の有害効果を持つ突然変異が起こる率が高いことや超優性を示す遺伝子座は少ないことが明らかにされ、有害突然変異の効果が近交弱勢の主要な原因であると理解されるに至っている (矢原, 1996)。

樹木の近交弱勢の研究は、個体が大きいことや成熟まで時間がかかること等の問題があり、草本に比べて少ない。我が国における近交弱勢の研究は、スギ (古越ら, 1985; 古越ら, 1974; 中島・勝田, 1987; 田淵・古越, 1972, Tajima, 1990; Kurinobu *et al.*, 1991; 明石, 1994), ヒノキ (田島, 1979), アカマツ (Ohba *et al.*, 1971), クロマツ (齊藤ら, 1986), ホオノキ (石田ら, 1995; 中村ら, 1996) などが知られているが、針葉樹を対象とした研究例がほとんどである。

ミズナラは、堅果の散布距離が比較的限られていることから、天然林内では近縁な個体がパッチ状に生育していることが推察される。天然林内での繁殖特性に大きく影響する要因である近交弱勢を解明するために、本節では血縁関係が既知の個体間の人工交配家系を用いて推定した。

II. 材料と方法

ミズナラの近交弱勢の大きさを推定するため、近交係数 0.25 と 0 の系統の創出を目的とした人工交配を行った。交配材料のうち、雌性親は、林木育種センター北海道育種場 (北海道江別市) のコナラ属交雑遺伝試験園に植栽されている 11 個体である。これらの個体は人工交配 (河野ら, 1991) により作出され、両親は明らかである。花粉親は、これら 11 個体の雌性親である北海道育種場内天然木 2 個体およびこれらと血縁関係のないと考えられる 1 個体の計 3 個体である。

近交係数は、以下の式 (Crow, 1986) により算出した。

$$F_I = \sum [(1/2)^n (1+F_A)]$$

ここで、 F_I : 個体 I の近交係数、 n : 個体 I の片親からさかのぼって共通の祖先の個体 A を通り、もう一方の親にいたるまでの経路に含まれている個体の数、 F_A : 個体 A の近交係数。

上式より、交配に用いたすべての個体の近交係数を 0 と仮定すると、雌性親とその子供との交配によって生じた交配家系の近交係数は、0.25 となる。また、血縁関係のない個体を用いた交配による交配家系の近交係数は 0 である。

1996 年 5 月中旬に雌性親に交配袋を掛け、6 月上旬に人工交配を 2 回ずつ行った。交配は花粉銃を用いて行い、人工交配の確実性を検証するために無交配の袋を全個体に設けた。6 月下旬に交配袋を除去し、9 月下旬

に成熟堅果を採取した。採取直後、堅果の重量、長さ、幅を測定し、翌春まで -1°C の冷蔵庫で保存した。翌4月、温室内に堅果を播種した。4月から9月にかけて発芽と形態異常個体を記録し、成長が完全に停止した11月に当年生苗の苗高を測定した。

Ⅲ. 結果

近交係数別の堅果の結果率を図1-4-1に示す。結果率は、交配袋除袋時の雌花数に対する成熟堅果の割合とした。採取できた堅果数が少なく、交配母樹間、交配袋間の変動が大きかったため、統計的な有意差は認められなかったが、結果率は、近交係数0.25で25%、0で37%となった。後者に比べ前者は、結果率で約32%の減少が観察された。無交配では、成熟堅果が得られず、自然花粉の汚染の証拠はなかった。近交係数別の平均堅果重を図1-4-2に示す。得られた堅果の近交係数別平均重量は、近交係数0が2.74g、近交係数0.25が2.23gで、前者は後者に比べ、約20%軽い結果が得られた。両者の平均値間には、 t -検定において5%水準で有意差が検出された。

交配堅果の発芽率および形態異常苗の割合を図1-4-3に示す。本研究では、苗を観察し、全体的に著しく矮小のもの、葉の色素が極端に薄いもの、葉の形が変形しているものを形態異常苗とした。近交係数0の堅果の発芽率は、一般に知られているミズナラの発芽率(齊藤, 1981; 生方ら, 1998)と同等の約70%であった。しかし、近交係数0.25では、発芽率は40%程度にとどまり、そのうち半数以上が形態異常苗であった。

当年生苗の苗高を図1-4-4に示す。近交係数0の個体の平均苗高は、13.5cmで自然受粉個体の平均13.3cmと同等であったが、近交係数0.25の個体では、7.4cmであった。 t -検定の結果、両交配家系間に5%水準で有意差が検出された。

以上の結果、近交係数0.25では、近交係数0に比べ、苗木生産率(雌花数に対する当年生苗木数の比率)で59.3%、苗高で45%減少した。

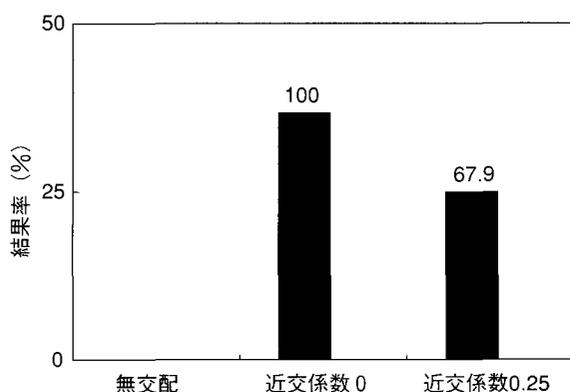


図1-4-1 近交係数別成熟堅果の結果率

棒グラフ上の数字は、近交係数0の結果率に対する割合を示す。

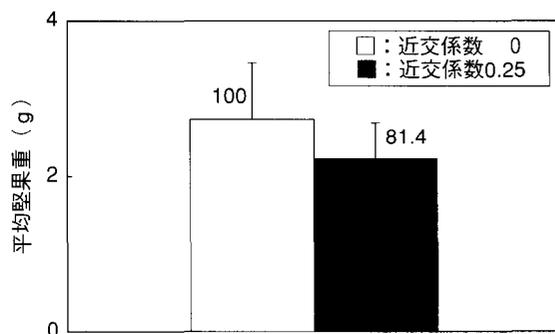


図1-4-2 近交係数別平均堅果重

棒グラフ上の数字は近交係数0の平均堅果重に対する割合を示し、エラーバーは、標準偏差を示す。

近交係数0と近交係数0.25の間に有意差が認められた(t -検定; $p < 0.05$)。

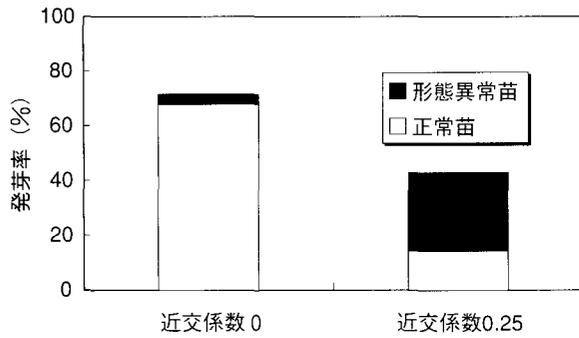


図1-4-3 近交係数別の発芽率と形態異常苗の割合
発芽率は、播種堅果数に対する発芽数の割合を示し、この発芽率を正常苗および形態異常苗に分けて表示した。

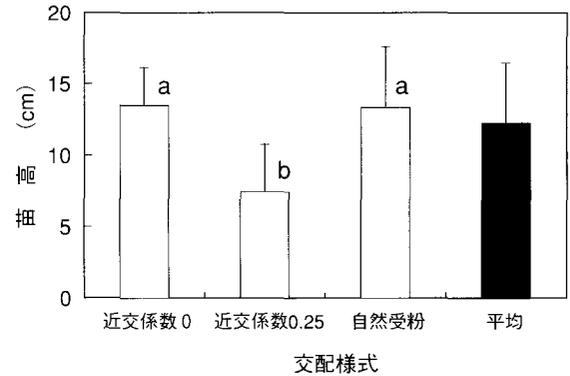


図1-4-4 交配様式別の当年生苗の苗高
交配様式別の平均値と標準偏差を示す。
棒グラフ上の異なるアルファベットは、有意差が認められたことを示す (t -検定; $p < 0.05$)。

IV. 考 察

人工交配により近交弱勢の有無を調査したところ、苗木生産率（雌花数に対する当年生苗木数の比率）および当年生苗高において近交係数0.25では、近交係数0に対してそれぞれ、59.3%、45%の減少がみられた。近親交配による諸形質の平均値の変化は、その形質に関係する遺伝子座が加法的に寄与する場合、近交係数に正比例する (Falconer, 1989)。樹木の苗高と近交係数との間に線形の関係が、*Picea abies* (Andersson *et al.*, 1974), *Pinus taeda* (Sniezko and Zobel, 1988), スギ (Kurino *et al.*, 1991) 等で報告されている。ミズナラにおいても線形関係が成り立つと仮定した場合、今回得られた近交弱勢の程度を近交係数0.1に対する形質の減少率 (Kurino *et al.*, 1991) で表すと、苗木生産率が約24%、当年生苗高が18%となる。他樹種におけるこの値を既存の文献から算出すると、スギの1年生の苗高が6% (Tajima, 1990)、2年生の苗高が7% (Kurino *et al.*, 1991)、ホオノキの当年生の苗高が4.1%と2.0% (中村ら, 1996) であった。以上から、ミズナラは比較的強い近交弱勢を持つことが示唆された。

第 2 章 ミズナラ天然林の遺伝的構造

第 1 節 目的および研究史

天然林内の遺伝的構造を決定する要因としては、親となる個体の密度や配置、花粉や種子の有効散布距離、種としての更新特性等が考えられる。天然林の遺伝的構造が明らかになれば、遺伝子の分散範囲を間接的に推定できるだけでなく、天然林施業で保残個体を選定する際の重要な情報となる。また、様々な形質の分布様式と遺伝構造を対照させることで、表現形質の遺伝性を推定することができると考えられる。

北海道の天然林では、森林の構造を樹群という概念でとらえ、様々な解析がなされている (北海道営林局, 1980; 北海道営林局, 1981; 北海道営林局, 1983; 北海道営林局, 1984; 北方林業会, 1983)。これらは、天然林内における様々な樹種の分布様式、樹種間の親和性、樹幹解析による更新周期の解析、稚幼樹の更新様式の解析等、様々な角度から天然林の構造の解析がなされている。しかし、当時は、生化学的な遺伝マーカーの開発はまだ進んでおらず、パーオキシダーゼアイソザイムによる、トドマツやシナノキの家系分析が行われたにす

ぎない。

天然林の遺伝的特性や遺伝的構造の解析には、アイソザイムマーカが主に使われている。我が国においては、ブナ（北村ら，1992；Takahashi *et al.*, 1994），アカシデ（Kitamura *et al.* 1992），ヒノキ（清藤，1990）カラマツ（河野・高橋，1994）等で解析が行われている。

天然林集団の空間的構造（水平的な構造）の解析には、アイソザイム遺伝子やRAPDマーカの分布様式をMoran's I（Sokal and Oden, 1978）や ρ_{ij} （Loiselle *et al.*, 1995）という統計量で記述する報告が多く出されている。アイソザイム遺伝子をMoran's Iにより解析した報告は、*Acer saccharum*（Perry and Knowles, 1991；Young and Merriam, 1994），*Psychotria nervosa*（Dewey and Heywood, 1988），*Larix laricina*（Knowles *et al.*, 1992），*Fagus sylvatica*（Merzeau *et al.*, 1994），*Quercus macrocarpa*（Geburek and Tripp-Knowles, 1994），*Quercus petraea*と*Quercus robur*（Bacilieri *et al.*, 1994），black spruce（Boyle *et al.*, 1990）等があり，RAPDマーカを用いたものには，*Picea abies*（Bucci and Menozzi, 1995）等がある。また，アイソザイム遺伝子と ρ_{ij} を用いた報告は，*Psychotria officinalis*（Loiselle *et al.*, 1995），*Quercus chrysolepis*（Montalvo *et al.*, 1997）等がある。これらの報告で集中分布する遺伝子の存在が示されている。

個体の集団内における分布様式は，I δ 指数（Morishita, 1959），m^{*}-m回帰法（Lloyd, 1967；Iwao, 1968）等が用いられ，2つのカテゴリーに属する個体が共存するか，避けあうかは， ω 指数（Iwao, 1977）が用いられてきている。これらは量的なデータを取り扱うことができないため，遺伝子の分布様式の解析に用いる場合，それぞれの個体の持つ遺伝子頻度を評価できない。そこで遺伝子の分布様式の解析には，量的なデータを解析可能なMoran's I等の統計量が用いられている。

本章では，第2節で千歳市近郊のミズナラ天然林を対象に，アイソザイム遺伝子を用いて，林分内の上木集団と林内の稚樹集団の遺伝的構造から上木集団の交配実態について議論した。また，第3節では，北海道内各地のミズナラ天然林の遺伝的構造について，アイソザイム遺伝子のMoran's Iによる解析から，林分の持つ様々な特徴と遺伝的構造の関係について議論した。

第2節 天然林内の林冠木集団と稚樹集団の遺伝的構造

I. はじめに

天然林の遺伝的管理を行う上で，天然林を構成する集団の遺伝的構造や集団内の交配実態を把握することは，重要である（酒井，1985）。近年，樹木集団における各種特性の空間分布様式の解析，アイソザイムやDNAといった遺伝マーカを用いた集団内の遺伝的構造や交配実態を解明するための研究が行われている。ミズナラを含むコナラ属樹種についても，空間的自己相関分析等による集団内構造の研究やDNAのマイクロサテライトマーカを用いた交配実態の研究（Dow and Ashley, 1996）が行われている。

本節では，アイソザイム遺伝子を用いて，ミズナラ天然林の林冠を構成する上木集団の遺伝的構造を解析した。また，頻度の低い対立遺伝子をマーカとして用いて，上木集団および林内の稚樹集団におけるマーカ遺伝子の位置の比較を行った。

II. 調査地と方法

北海道千歳市郊外のミズナラ天然林（北海道森林管理局石狩森林管理署恵庭事務所291林班）に東西200m×

南北150mの調査区を設定した（第1章図1-2-1参照）。調査区を設けた林分は、樽前山麓のなだらかな斜面に位置し、約250年前の樽前山の噴火後に成立したといわれており、ミズナラの他にアカエゾマツ、エゾマツ、イタヤカエデ、アズキナシ等が混生している。周辺の多くは、アカエゾマツ、カラマツ、ストロブマツ等の人工林となっているが、ミズナラやアカエゾマツを主とした天然林も残されている。

調査区内およびその周囲の胸高直径10cm以上のミズナラ328個体（以下、上木集団と示す）について、樹高、胸高直径、位置を測定し、1993年から1995年にかけての冬季にアイソザイム実験用の冬芽を採取した。また、調査区全域からランダムに選定した樹高2m以下の稚樹371個体の冬芽も併せて採取した。稚樹の位置は、実験用試料採取時に位置のわかっている周囲の上木個体位置から推定した。これらの冬芽は、実験に供するまで-50℃の冷凍庫で保存した。電気泳動は平板ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法で行った。試料の調整法、電気泳動法および染色法は、白石（1987-1988）および津村ら（1990）の方法によった。解析に用いた酵素種は、アラニンアミノペプチダーゼ（AAP, 酵素番号3.4.11.1.）、ロイシンアミノペプチダーゼ（LAP, 酵素番号3.4.11.1.）、メナジオンレダクターゼ（MNR, 酵素番号1.6.99.2.）およびホスホグルコースイソメラーゼ（PGI, 酵素番号5.3.1.9.）の4種である。これらの泳動像から遺伝子座を推定し、遺伝子型を決定した。この遺伝子型から上木および稚樹のそれぞれの集団ごとに遺伝子型頻度および遺伝子頻度を算出した。

稚樹集団の近交係数を以下の式により求めた（Crow, 1986）。

$$F = (H_0 - H) / H_0$$

このとき、F：近交係数、 H_0 ：ランダム交配のときに期待されるヘテロ接合体の頻度、H：観察されたヘテロ接合体の頻度。

出現頻度の低い4遺伝子（*Lap-I*遺伝子座のaおよびf遺伝子、*Pgi-I*遺伝子座のdおよびe遺伝子）について、上木および稚樹の各遺伝子を保有する個体の位置を図上にプロットした。

上木集団の遺伝的構造を解明するために、アイソザイム遺伝子についてMoran's I（Sokal and Oden, 1978）による空間的自己相関分析を行った。

Moran's Iは、以下の式で求められる。

$$I = N \sum_{i=1} \sum_{j=1} (w_{ij} z_i z_j) / \left(\sum_{i=1} \sum_{j=1} w_{ij} \sum_{i=1} z_i^2 \right)$$

このとき、Nは個体数である。 w_{ij} は荷重を表し、i番目の個体とj番目の個体の距離が当該の距離階に入る場合は1、入らない場合は0となる。また、 Z_i ：（個体iの遺伝子頻度）-（集団全体の遺伝子頻度）、 Z_j ：（個体jの遺伝子頻度）-（集団全体の遺伝子頻度）である。各個体は、ある対立遺伝子を0、1または2個持つ場合があり、個体の遺伝子頻度は、それぞれ0、0.5および1.0として計算に用いた。Moran's Iは、-1～1の範囲をとり、遺伝子がランダムに分布しているときの期待値（E(I)）は、 $E(I) = -1/(N-1)$ となる。Moran's Iの標準正規偏差が-1.96～1.96の範囲を超えた場合、ランダム分布と有意差があると判定した（5%水準）。標準正規偏差は、以下の式で算出した。

$$(\text{標準正規偏差}) = (\text{Moran's I} - E(I)) / (\text{標準偏差})$$

Moran's Iが期待値より有意に大きい場合、その距離階で個体の持つ遺伝子の類似性が高いことを示し、有意に小さい場合、非類似性が高いことを意味している。

なお、解析は林木育種センター東北育種場の高橋により開発されたPSAwin ver. 2.0を使用して行った。

Ⅲ. 結果

調査したミズナラ（上木集団）の平均樹高は18.1m（標準偏差±3.8m）、平均胸高直径は35.8cm（標準偏差±9.4cm）であった。胸高直径10cmから20cmまでのサイズの小さいミズナラは、全て林縁部に分布していた。稚樹は樹高2m以下で、当調査区には、樹高2m以上かつ胸高直径10cm以下の個体は存在しなかった。北海道において、ミズナラはしばしば一斉林をつくるが、個体サイズの分布は非連続的（佐野，1985）で、林冠木と稚幼樹のみで構成されている林分や林床にササが優占し林冠木のみ林分が一般的である。当調査区は、ササの密度が低く、相当数のミズナラ稚樹が存在し、他にアカエゾマツ、アズキナシ、ヤマウルシ等の稚樹がみられた。

稚樹集団におけるアイソザイム遺伝子座ごとの近交係数、ホモ接合体頻度の観察値とハーディ・ワインベルグ比からの期待値を図2-2-1に示す。任意交配集団の遺伝子型頻度のハーディ・ワインベルグ比は、対立遺伝子頻度の二項展開の各項に相当する（Crow，1986）。調査した4遺伝子座とも、稚樹集団において近交係数に0からの有意差は検出されなく（ χ^2 検定，Nei，1987）、近親交配の証拠は認められなかった。

上木と稚樹における低頻度の遺伝子の分布を図2-2-2に示す。低頻度の遺伝子を保有する稚樹の分布は、相同の遺伝子を保有する上木の周囲に限られることがわかった。

上木集団の遺伝的構造を解析するために、距離階ごとにMoran's Iの値をプロットしたcorrelogramを作成した（図2-2-3）。すべての遺伝子についてcorrelogramを描くと非常に複雑になるので、全遺伝子のMoran's Iの値を距離階ごとに平均したMean Moran's Iにより作成されたcorrelogram（Bacilieri *et al.*, 1994）のみを図示した。Moran's Iの値は、遺伝子が集団内に均等に分散していれば、期待値に近づき、ある距離階において同じ遺伝子を持つ個体が多くなると1に近づく。よって、近い距離階でMoran's Iの値が期待値よりも有意に大きいということは、遺伝子が集中分布していることを示している。Geburek and Tripp-Knowles（1994）は、Moran's Iにより作成されたcorrelogramが、遺伝子がランダムに分布するとき期待される値を示す直線と初めて交差する地点の距離が、遺伝子の集中斑（パッチ）の直径であるとしている。当調査区において40~50m程度の大きさの遺伝的なパッチの存在が示された。また、距離階ごとに分布に有意差のみられた遺伝子数を同図に示したが、短い距離階に有意に多く分布している遺伝子が存在した。Lap-1遺伝子座のa遺伝子およびPgi-1遺伝子座のa遺伝子の分布を図2-2-4および図2-2-5に示す。どちらも明瞭なパッチがみられる。

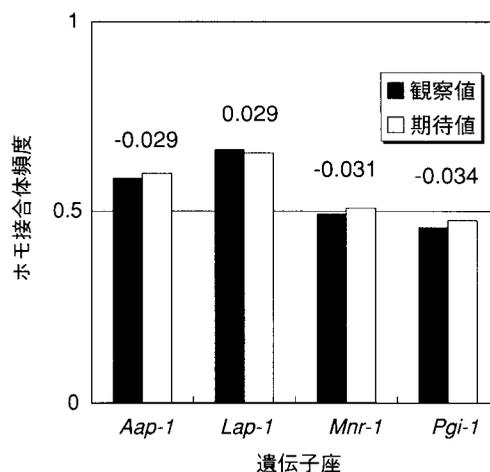


図2-2-1 稚樹集団における遺伝子座ごとの近交係数、ホモ接合体の観察値と期待値の比較

棒グラフ上の数字は、各遺伝子座における近交係数を示す。

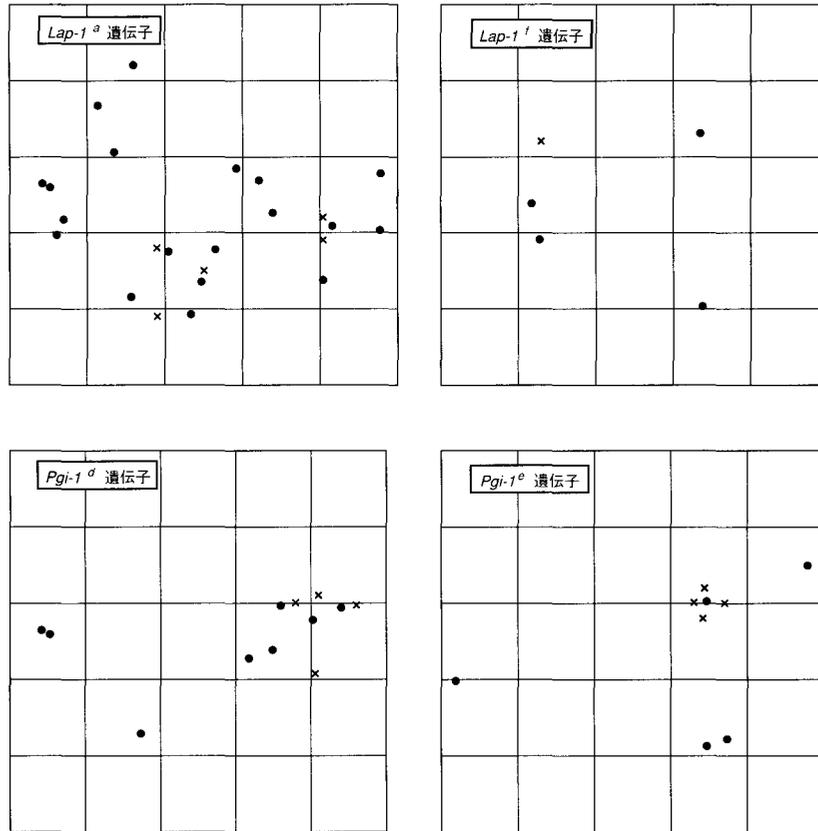


図2-2-2 上層木と稚樹における低頻度の遺伝子の分布

● : 上層木
 × : 稚樹

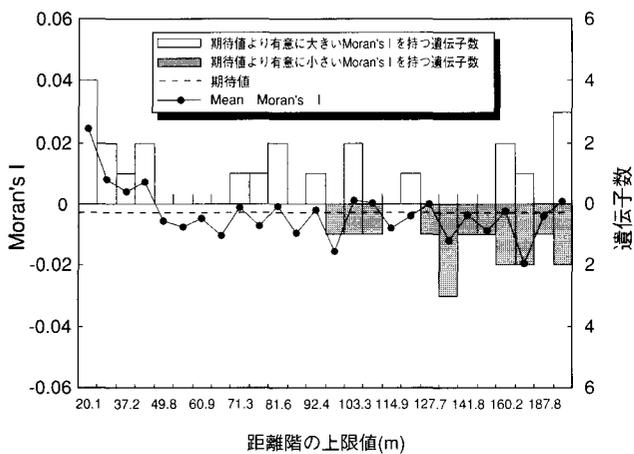


図2-2-3 Mean Moran's I による correlogram と距離階ごとの期待値と有意差のみられた遺伝子数

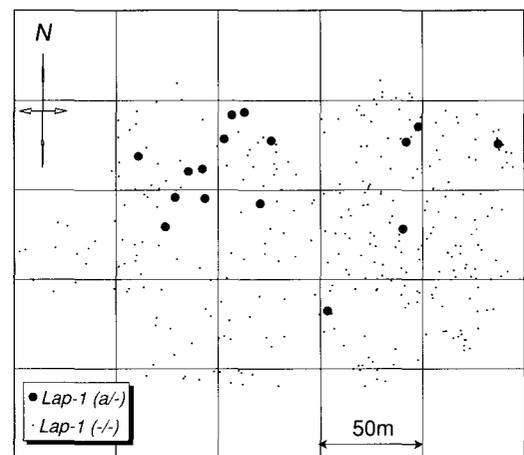


図2-2-4 *Lap-1* 遺伝子座の *a* 遺伝子を保有する個体の分布

凡例の *Lap-1* (*a*/-) は、*Lap-1* 遺伝子座において、*a* 遺伝子を1つ保有する個体、*Lap-1* (-/-) は、保有しない個体を示す。

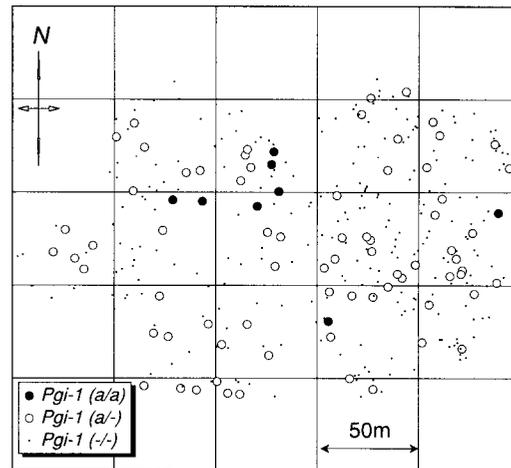


図2-2-5 *Pgi-1*遺伝子座の *a* 遺伝子を保有する個体の分布

凡例の *Pgi-1* (*a/a*) は *Pgi-1* 遺伝子座において、*a* 遺伝子を 2 つ保有する個体、(*a/-*) は 1 つ保有する個体、*Pgi-1* (*-/-*) は、保有しない個体を示す。

IV. 考察

本節で対象とした千歳市郊外のミズナラ天然林では、上木集団および林内の稚樹集団の遺伝子頻度と遺伝子型頻度は、ハーディ・ワインベルグ比が成り立っており、近親交配の証拠はなかった。一般に他家受精を行っている生物では、たいていの場合、酵素遺伝子座においてハーディ・ワインベルグ比が成り立っているといわれている (Nei, 1987)。天然の樹木集団においても、*Quercus chrysolepis* (Montalvo *et al.*, 1997)、ブナ (Takahashi *et al.*, 1994)、アカシデ (Kitamura *et al.*, 1992)、ヒノキ (清藤, 1990) 等で同様の結果が示されている。しかし、個体密度の低いブナ (北村ら, 1992) や個体数が少なく他集団と隔離している北限のカラマツ (河野・高橋, 1994) では、高い近交係数が報告されている。

当林分は、胸高直径10cm以上の林冠を構成する上木集団と樹高2 m以下の稚樹集団に分けられ、その中間サイズの個体は存在しない。よって、林分外からの花粉や堅果での遺伝子の移入がなければ、林内の稚樹は上木集団の子供群であると考えられる。林分内での遺伝子の移動は、花粉による雄性親個体から雌性親個体への移動と、重力や動物による堅果の移動とに分けられる。アイソザイム遺伝子では、その遺伝子が雌雄どちらの親由来か明らかにできないが、最も近い同一の遺伝子を保有する上木を稚樹の片親とすると、林分内での遺伝子の移動は、比較的小さいと考えられる。

上木集団の遺伝子の分布様式は、近距離階でMean Moran's Iの値が高く、遺伝的なパッチ状構造のあることが示唆された。共通の遺伝子を保有する個体間の近縁度は、高いと考えられることから、パッチ状構造は、遺伝的に近縁な個体によるものと推察される。北海道内における他のミズナラ8集団においても、パッチの大きさは異なるもののすべて同様の分布様式を示した (次節参照)。また、sugar maple (Perry and Knowles, 1990; Young and Merriam, 1994)、*Quercus macrocarpa*, (Geburek and Tripp-Knowles, 1994) 等においてパッチ構造が検出されている。遺伝子の移動範囲が大きくない場合、ある個体はその周辺の個体と血縁関係の高いことが予想される (Fenster, 1991; Levin, 1984)。ミズナラの場合、花粉の大きさは直径20 μ m程度でマツ科の樹種やブナより小さく (中村, 1980)、飛散距離は大きいと考えられるが、堅果は大きく、重力散布およ

びカケスや齧歯類などの動物散布に依存している（宮木・菊沢，1986；宮木，1988）。ミズナラで検出されたパッチ構造は，おもに堅果散布距離の制限によって生じたものと考えられる。

上木集団は，遺伝的なパッチ構造を持つことから血縁関係の高い個体同士の交配機会が増し，次世代の集団の近交係数は高くなると考えられる。しかし，上木集団の子供群であると考えられる稚樹集団の遺伝子頻度と遺伝子型頻度の間には，ハーディ・ワインベルグ比が成り立っており，近交係数は0と有意な差が認められなかった。この原因として，ミズナラは受粉時には近親交配の頻度が高いものの，強い近交弱勢によって近親交配由来の受精胚や個体が選択的に死亡するため，稚樹段階では任意交配によって成立した集団のような遺伝子型頻度となることが考えられる。

第3節 北海道におけるミズナラ天然林の遺伝的構造

I. はじめに

固着性であり，種子が定着発芽後は移動することができない植物集団の遺伝的構造は，繁殖や更新様式に深く結びついていると考えられる。種子や花粉による遺伝子の移動距離が大きくない場合，集団は近縁な個体による遺伝的なパッチ構造を持ち，移動が大きい場合は，遺伝子はランダムな分布を示すと推察される。前節において，千歳市近郊ミズナラ天然林の林冠木集団は，直径40～50mの遺伝的なパッチ構造を持っていることが明らかとなった。

集団の遺伝的構造は，一定のものではなく，森林の発達に伴い変化するものと考えられる。本節では，北海道内各地のミズナラおよびカシワの天然林について，前節と同様にアロザイム遺伝子とMoran's Iを用いて遺伝的構造を解析した。また，個体サイズ等と遺伝的構造の関係についての解析も行った。

II. 調査地と方法

調査対象林分の所在地を図2-3-1に示す。このうち，枝幸および遠軽については，1地域から2集団（海側および内陸側）を対象とし，他の9地域は，1集団を対象とした。なお，対象とした全ての集団は，林木遺伝資源保存林である。林分内の約2haの範囲にある林冠木からランダムに選定した100～200個体について，樹高，胸高直径，位置を測定し，1993年～1996年の冬季にアロザイム実験用の冬芽を採取した。これらの冬芽は，実験に供するまで-50℃の冷凍庫で保存した。電気泳動は平板ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法で行った。試料の調整法，電気泳動法および染色法は，白石（1987-1988）および津村ら（1990）の方法によった。解析に用いた酵素種は，アラニンアミノペプチダーゼ（AAP，酵素番号3.4.11.1.），ロイシンアミノペプチダーゼ（LAP，酵素番号3.4.11.1.），ホスホグルコースイソメラーゼ（PGI，酵素番号5.3.1.9.），アスパラギン酸アミノ転移酵素（GOT，酵素番号2.6.1.1.）の4種

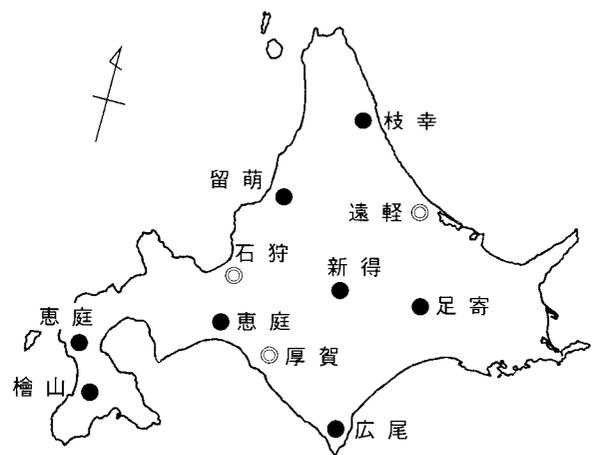


図2-3-1 調査対象林分の所在地

●：ミズナラ林分
○：カシワ林分

である。これらの泳動像から遺伝子座を推定し、遺伝子型を決定した。この分析データを用いて、前節と同様にMoran's Iの値を算出した。

Ⅲ. 結果

調査林分別の胸高直径の分布を図2-3-2に示す。平均胸高直径は、石狩（カシワ）が8.4cmと最も小さく、遠軽（陸）（カシワ）が44.6cmと最も大きかった。全体の平均は、28.7cmだった。ミズナラ林分のみでは、枝幸（海）が16.1cmと最も小さく、足寄が43.4cmで最も大きかった。ミズナラ林分のみでの平均は、30.6cmだった。

ミズナラの9林分について、アイソザイム分析から推定したパッチサイズと平均胸高直径および平均樹高との関係を図2-3-3および図2-3-4に示す。パッチサイズと平均胸高直径との間に有意な正の相関が認められた（相関係数, 0.669; $p < 0.05$ ）が平均樹高との間に相関は認められなかった（相関係数, 0.277; $p > 0.05$ ）。

Ⅳ. 考察

北海道のミズナラ林には、小中径木からなる一斉林と大径木からなる林分が存在する（木幡ら, 1980）。一斉林は、山火事等による攪乱後に再生した二次林と考えられ、直径分布は、正規分布に近い形となる（青木ら, 1964）。Nakashizuka and Iida (1995) は、1945～1949年の5年間で東北日本における10ha以上の山火事の分布を示しているが、北海道全域で比較的高頻度に山火事が発生していることがわかる。

大径木からなる林分は、構成する個体の樹齢構成が非連続的であり、樹齢に100年（佐野, 1985）や200年（石塚, 1983）程度の周期性が認められている。この原因としては、台風などによる攪乱、ササの枯死、種子の豊凶、動物との関係などがあげられている（佐野, 1985）。実際にササがミズナラの更新を阻害しているという

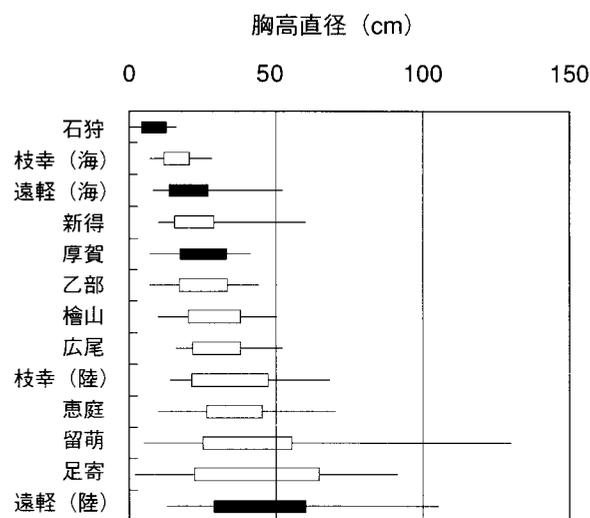


図2-3-2 調査林分別の胸高直径の分布

□：ミズナラ林分，■：カシワ林分

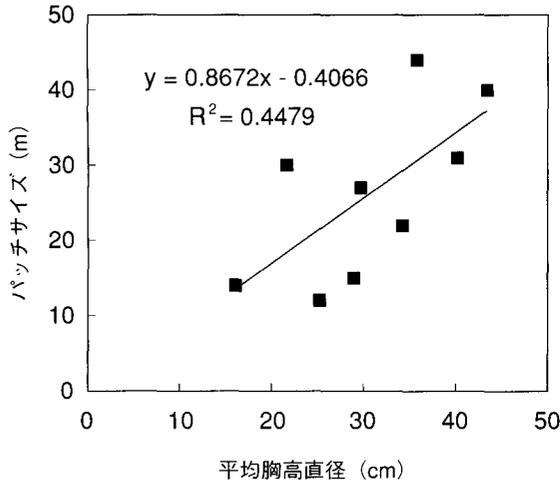


図2-3-3 平均胸高直径とパッチサイズとの関係

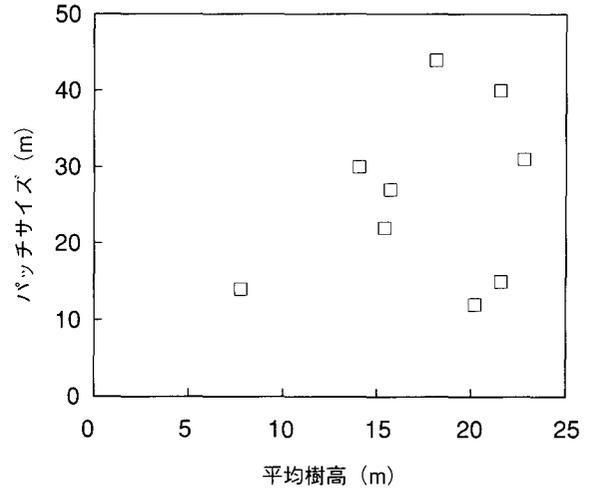


図2-3-4 平均樹高とパッチサイズとの関係

報告 (木幡ら, 1980) がある。

上記の 2 タイプの林分が同じ時系列上にあるという証拠はないが、ミズナラは、大規模な攪乱により一斉に更新し、その後周期的に発生する中小規模の攪乱により部分的に更新すると考えられる。今回対象とした林分でも、平均胸高直径の大きい林分は、胸高直径の分布の幅が広く、特に留萌の林分では、非連続的に大きなサイズの個体が分布していた。これに対して、平均胸高直径の小さい林分では、一山型の正規分布に近い分布の形をしている。

今回、ミズナラ林の平均胸高直径と遺伝子の分布にみられるパッチサイズ間に正の相関が認められた。大規模な攪乱により一斉に更新したミズナラは、種子の散布距離の制限などにより比較的小さな遺伝的パッチ構造をもつが、その後の攪乱に伴い、部分的に更新することによりそのパッチの面積を広げていくと考えられる。

第 3 章 ミズナラとカシワの種間交雑

第 1 節 目的および研究史

ミズナラを含むコナラ属は、アジア、ヨーロッパおよび北アメリカ大陸に300種以上が分布するとされている (Camus, 1934-1954)。それぞれの種の分布は重なり合い、近縁な種間で広範な遺伝子流動が起こっていることが報告されており、ナラ類は multispecies もしくは遺伝子を交換可能な種の集合体であることが示されている (Van Valen, 1976)。北海道には、ミズナラ、コナラおよびカシワが天然に分布し、ミズナラの母種であるモンゴリナラも天然分布するという文献 (上原, 1959; 大井, 1965; 宮部・工藤, 1925) もある。北海道のミズナラは、外部形態や材質において地域間差や個体間差が大きいことが指摘されている (宮崎ら, 1988; 門松, 1983; 宮島, 1986; 深沢, 1989)。宮崎 (1988) は、外部形態の調査から、北海道全域でコナラ属内の複数樹種間の雑種が形成されていることを指摘し、大場 (1989) は、北海道南部の海岸においてミズナラとカシワの形質を様々な程度で併せ持つ個体が存在することから、浸透交雑の可能性を指摘している。河野ら (1991) は、コナラ属 3 種間の人工交配を行い、ミズナラ×カシワ、ミズナラ×コナラ、コナラ×ミズナラ、コナラ×カシ

ワの組合せで雑種を創出し、種間交雑が可能であることを示した。この中で特にミズナラ×カシワは、堅果の結果率が高く、ミズナラの種内交配の結果率に匹敵する組合せもあった。

Gottlieb (1972) は、雑種形成を証明するための基準として、形態的な中間性の他に以下の点を掲げている。

- 1) 生化学的な特徴、フラボノイドやタンパク質といった片方の種にはあるが両方の種にない物質
- 2) 集団間の形態的変異の程度（母種の変異の分離に起因する）
- 3) 推定雑種は両親種の生育する立地条件の中間的な立地に見いだされることおよび推定雑種は、生理的に両親種の中間を示す証拠
- 4) 推定される両親種が同時に生育する場所で推定雑種が見いだされること
- 5) 推定される両親種より最近の地層での推定雑種の化石の発見
- 6) 遺伝子型が分離する可能性もつ両親種間のF1の少なくとも部分的な稔性の存在
- 7) 推定された雑種に似ている個体の実験的な生産

Rushton (1993) は、これにいくつかの雑種で示されている稔性の減少とDNA多型を付け加えている。

本章では、ミズナラとカシワとの自然交雑の可能性を検討するため、第2節で河野ら(1991)の創出した組合せと逆の組合せであるカシワを雌性親、ミズナラを雄性親とした人工交配を行い、交雑和合性を検討した。次に第3節および第4節で、河野ら(1991)の創出したミズナラ×カシワ種間雑種個体の葉や堅果の諸形態および花粉の表面形態を両親種と比較した。第5節では、ミズナラとカシワの浸透交雑の可能性を検討するため、創出された種間雑種の稔性や花粉の生産性、両親種との交雑和合性の検討を行った。そして最後の第6節で、上記のGottlieb(1972)の基準の7)に対応して、人工種間雑種と自然雑種と考えられる個体の形態を比較した。

第2節 ミズナラとカシワの交雑和合性

I. はじめに

ミズナラやカシワ (*Quercus dentata* Thunb.) を含むコナラ属コナラ節では、形態的な特徴に基づく種間雑種が多くの組合せで知られており、遺伝子を交換できる種の集合体であることが示唆されている (Van Valen, 1976)。北海道においても、コナラ節の各樹種の中間的な形態を持つ個体の存在が指摘され、道内各地に分布しているとされている (宮崎, 1988)。ミズナラは、家具材として商品価値が高く、高価で取り引きされているが、経験的に材質と雑種との関係が指摘されている (高橋, 1984, 竹越, 1988)。

人工交雑によるコナラ属の種間雑種の創出は、様々な組合せで報告されている (Piatnitsky, 1960; Cottam *et al.*, 1982; 河野ら, 1991; Steinhoff, 1993; ; 橋詰, 1994; Steinhoff, 1998) が、人工交配の確実性を疑問視する報告もある (Cottam *et al.*, 1982)。

ミズナラとカシワの種間雑種の形成・維持機構を解明するために、カシワを雌性親に、ミズナラを花粉親にした人工交配を行い、すでに種間雑種が得られている組合せ (河野ら, 1991) と雌雄を逆にした組合せでの交雑和合性の確認を行った。

我が国における樹木の自然雑種は、コナラ属各樹種間を始め、アカマツとクロマツ (平吉・林, 1961; 佐藤, 1961)、ハイマツとキタゴヨウ (林田ら, 1996)、アカエゾマツとエゾマツ (濱谷ら, 1989) 等で知られている。このうち、アカマツとクロマツの雑種のアカクロマツ (渡辺ら, 1996) およびハイマツとキタゴヨウの雑種のハッコウダゴヨウ (林田ら, 1996) についてDNA分子マーカによる雑種性の検証がなされている。また、ア

カエゾマツとエゾマツとの自然雑種については、アロザイムによる同定がなされている（勝木ら，1993）。

人工雑種は、耐鼠性の高いグイマツとカラマツの雑種（倉橋，1988）、マツノザイセンチュウの抵抗性に優れたクロマツとタイワンアカマツの雑種（和華松）（古越ら，1984）などが利用されているほか、マツ科マツ属 *sylvestres* 亜属内の大規模な種間交雑（Furukoshi and Sasaki, 1985）、アカエゾマツとヨーロッパトウヒ（河野・栄花，1988）、トドマツとウラジロモミおよびシラベ（河野・栄花，1985）、ヒノキとサワラ（大黒・岡村，1987）等の種間雑種が創出されている。

II. 材料と方法

本節および5節で人工交配に用いた個体を表3-2-1に示す。1997年の5月から6月にかけて、カシワを雌性親に、ミズナラを花粉親にした人工交配を行った。雌性親には、石狩市の海岸林（石狩森林管理署67林班）からランダムに選定したカシワ2個体を用いた。花粉親には、北海道育種場内の天然生のミズナラ3個体を用いた。5月中旬、雌性親個体に交配袋を掛け、6月4日および5日にあらかじめ採取、精選しておいた花粉を花粉銃を用いて交配袋内に噴射した。2週間後に交配袋をはずし、9月下旬に成熟堅果を採取した。交配組合せ別の堅果結果率（成熟堅果数／雌花数）を求めた。なお、交配袋は、市販されている王子製紙株式会社の晒クラフトパルプで作られた一重袋（20cm×40cm）を用い、枝と袋の口の間に綿を詰めビニール被覆の針金で縛り、密封した。

表3-2-1 人工交配に用いた材料

樹種	個体番号	樹高 (m)	胸高直径 (cm)	所在地
ミズナラ	P2	12.0	32.0	北海道江別市文京台
	P3	14.0	25.0	〃
	M5	7.0	32.0	〃
ミズナラ×カシワ (種間雑種)	F181	5.2	9.0	〃
	F183	4.8	6.5	〃
	F229	5.5	9.0	〃
カシワ	D6	4.5	14.0	北海道 石狩市
	D11	2.3	5.0	〃

III. 結果および考察

カシワ×ミズナラの種間雑種創出における交配組合せ別の堅果結果率を図3-2-1に示す。結果率の最高はD11×P3の12.2%で、0%の組合せが2つあった。6組合せのうち4組合せで成熟堅果を得ることができた。

河野ら（1991）は、ミズナラを雌性親、カシワを花粉親とした人工交配により種間雑種が得られることを報告している。このときミズナラの雌性親を3個体、カシワの花粉親を2個体用いているが、6組合せのうち2組合せで堅果が得られている。今回雌性親と花粉親を逆にした人工交配でも堅果が得られた。このことから、両種間では正逆いずれの交配でも交雑和合性のあることが明らかになった。ミズナラ×カシワの人工交配でも

指摘されているように（河野ら，1991），堅果の結果率は，交配に用いる個体によって大きく異なることが示唆された。集団間や産地間の交雑和合性の違いも今後明らかにする必要がある。

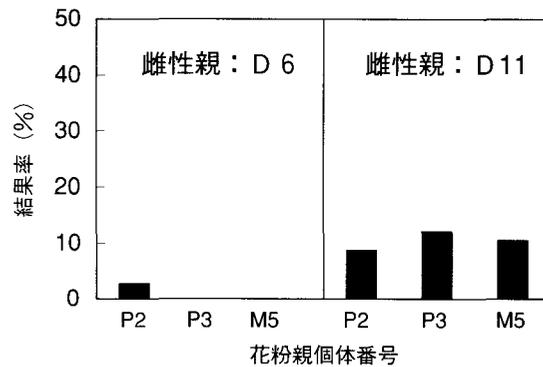


図3-2-1 カシワ×ミズナラ人工交配の結果率 (1997年)

結果率は，雌花数に対する成熟堅果数の割合を示す。

D6, D11はカシワ，P2, P3, M5はミズナラを示す（表3-2-1参照）。

第3節 ミズナラ×カシワ種間雑種の形態的特性

I. はじめに

Phipps (1984) は，雑種形成を証明するにはいくつかの方法があるが，最初の雑種の認知は，形態的な中間性によるものであり，推定雑種は，両親種の間の特徴をもつか，あるいは両方の特徴を併せ持つとしている。Gottlieb (1972) は，形態的な中間性を欠く場合，雑種性は推定できないと指摘している。実際に種間雑種の推定は，アカマツとクロマツ（平吉・林，1965；佐藤，1961），アカエゾマツとエゾマツ（佐々木，1982）などほとんどの場合，葉や種子などの形態の中間性から指摘されている。しかし，人工交雑により得られた雑種の形態については，ヒノキ×サワラについて，球果が雌性親のヒノキに近いこと（大黒・岡村，1987；竹内ら，1997），稚樹段階では識別可能だが成長につれ難しくなること（大黒・岡村，1987），クロマツ×タイワンアカマツについて，形質により雌性親または花粉親に似るものがあること（大谷ら，1991）が報告されている。また，田島（1991）は，*Acacia mangium*と*A. auriculiformis*の自然雑種について，若齢木の葉形は*A. mangium*に，成木の葉形は*A. auriculiformis*に似ることを報告している。このように種間雑種の形質は，必ずしも両親種の中間を示すとは限らない。

我が国のコナラ属も主に葉の形態から種間雑種の存在が指摘されてきた（宮崎，1988；橋詰ら，1994；岡田ら1993）が，人工的に創出された種間雑種の形態についての報告はない。本節では，ミズナラ，カシワ，ミズナラ×カシワ交雑個体およびミズナラ種内交配個体について，葉，殻斗，当年枝および冬芽の形態の比較を行ない，交雑種の各形質と両親種の形質の関連性を明らかにすることを目的に行った。

II. 材料と方法

1995年10月に林木育種センター北海道育種場内のコナラ属交雑遺伝試験地に植栽されている8年生のミズナラ×カシワ交雑家系2家系33個体（以下交雑家系と示す），ミズナラ種内交配家系9家系42個体を対象に調査を

行った。また対照として、交雑家系の母樹を含むミズナラ 5 個体（江別市の北海道育種場内）、交雑家系の花粉親と同一林分のカシワ 5 個体（石狩市）についても併せて調査した。調査項目は以下のとおりである。

葉：各個体から無作為に選んだ10枚について、図3-3-1に示した、葉身長 (L)、葉身幅 (W)、葉柄長 (L'), 最大幅までの長さ (M)、側脈角度 (K)、側脈数 (N) を測定した。側脈数は、裏面右半分の側脈の数とした。最大幅を示す位置での鋸歯の形状を島田ら (1993) に従い数値化した。また、任意の 3 枚について葉裏面中央付近の星状毛数を実体顕微鏡により数えた。また、乾燥器で強制乾燥 (60℃で5日間) し、絶乾重量 (G) を測定した。葉の形質はすべて平均値を個体の代表値とした。葉の調査形質およびそれらから導き出される形質について主成分分析を行った。主成分分析に用いた形質は、葉身長 (L)、葉柄長 (L'), 葉身幅 (W)、側脈角度 (K)、側脈数 (N)、形状比 (W/L)、葉柄比 (L' / (L+L')), 葉の大きさ (L×W)、側脈密度 (N/L)、葉身長比 (M/L)、葉面積比 (S/G) および鋸歯型の12形質である。なお、今回調査に使用した葉を無作為に30枚抽出し、プランメータで測定した面積と葉身長と葉身幅の積との相関を求めたところ、相関係数0.939と非常に高かった。そこで、葉の大きさを表す指標として、葉身長と葉身幅の積を使用した。

当年枝：個体最上部に位置する頂芽由来の当年枝について頂芽直下部の直径を測定した (以下主軸径とする)。また、無作為に選んだ当年枝 (2次伸長枝は除く) 2本について頂芽直下部の星状毛の状態を表3-3-1の5段階で評価した。

冬芽：個体ごとに任意に選んだ頂芽 2 個について芽鱗表面の絹毛の状態を表3-3-1に従い評価した。

殻斗：個体ごとに任意に選んだ最高 5 個の殻斗について、最上部の総苞片が殻斗から露出している長さ (図3-3-1) をデジタルノギスで測定した。

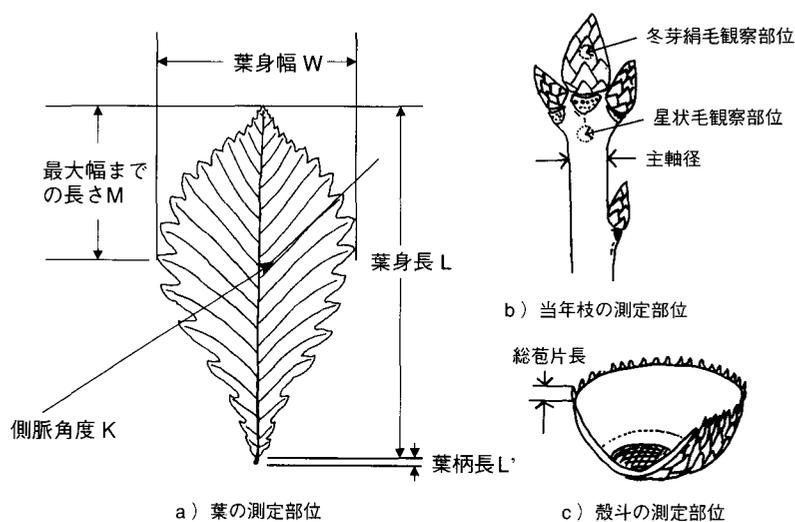


図3-3-1 葉, 当年枝および殻斗の測定部位

表3-3-1 葉および芽鱗の着生状況指数

指数	状態
1	無：なし
2	微：局所的に散在
3	散：全体的に散在
4	多：全面が毛でおおわれる
5	密：毛が密生し表面が見えない

Ⅲ. 結果

図3-3-2に形状比と葉の大きさとの関係を示す。交雑家系は、葉が大きくかつ形状比が小さく、ミズナラ種内交配家系は、葉が小さくかつ形状比が大きい傾向がみられ、両者の分布は分離した。

図3-3-3に乾重1g当たりの葉の大きさと葉の側脈密度との関係を示す。側脈の密度は、葉身1cm当たりの側脈数 (N/L) で表し、乾重1g当たりの葉の大きさは葉身長と葉身幅の積を絶乾重量で割ったもの ($L \times W/G$) で表した。この関係においても交雑家系とミズナラ種内交配家系の間に明瞭な差がみられ、前者は単位長さ当たりの側脈数が少なく（側脈間隔が広い）、単位重量当たりの大きさが小さい傾向がみられた。後者は逆の傾向を示した。また、交雑家系は、対照としたミズナラとカシワの中間に分布していた。

図3-3-4に葉の平均星状毛数を示す。カシワ5個体、ミズナラ4個体、交雑家系2家系15個体およびミズナラ種内交配家系6家系11個体を対象とした。カシワの星状毛数は、平均840本/cm²で裏面をおおい尽くすほど密生していた。ミズナラは所々に散生しているか全くなく、ミズナラ種内交配家系もほとんどみられなかった。交雑家系は、個体によりばらつきがあったものの平均120本/cm²で、ミズナラとカシワの中間よりミズナラに近い密度であった。

図3-3-5に葉の形質の主成分分析の結果を示す。横軸の第一主成分の寄与率が38.8%、縦軸の第二主成分の寄与率が24.1%で、累積寄与率は、62.9%となり、全12形質の6割以上の変異を二軸で表現できたこととなる。第一主成分軸はプラス方向にいくに従い、葉柄長や葉身幅が大きくなり、逆に側脈数、比面積は小さくなる。第二主成分軸はプラス方向にいくに従い、葉面積、側脈角度が大きくなり、葉柄比や鋸歯型指数が小さくなることを示している。

図3-3-6に殻斗最上部の総苞片が殻斗上面から露出している長さの平均値を示す。カシワ3個体、ミズナラ2個体、ミズナラ種内交配家系2個体および交雑家系1個体を対象とした。総苞片の露出長はカシワでは平均6.7mmと長く、ミズナラとミズナラ種内交配家系では、全く露出していないか1mm以下であった。交雑家系では1～2mmでミズナラとカシワの中間よりややミズナラに近い値となった。また、一般にカシワの殻斗上部の総苞片は線状披針形で反り返り、ミズナラでは広卵形で瓦重ね状に圧着している（大場，1989）。交雑家系では長卵形で瓦重ね状に緩く着生して先端部のみがやや反り返り、両者の中間型であった。

カシワは、若枝がはじめから太いという特徴がある（大場，1989）ことから同齢の交雑家系とミズナラ交配家系の当年枝の太さを比較した。また両者の樹高および根本径の比較も同時に行った。図3-3-7にその結果を示す。平均根元径は交雑家系が40mm、ミズナラ種内交配家系が38mmであった。同様に平均樹高は172cm、170cm、平均主軸径が7.2mm、4.8mmであった。*t*-検定の結果、主軸径については、交雑家系とミズナラ種内

交配家系の平均値の間に 5%水準で有意な差が認められた。一方、根元径および樹高では差が認められなかった。交雑家系は、ミズナラ種内交配家系に比べ太い枝を持つことがわかった。

図3-3-8に冬芽の絹毛および当年枝の星状毛の着生状態の頻度分布を示す。絹毛および星状毛ともカシワではすべて「密」に着生し、ミズナラおよびミズナラ種内交配家系では「無」の頻度が高かった。交雑家系は、両者の中間を示し、星状毛は「多」、絹毛は「散」と「多」であった。

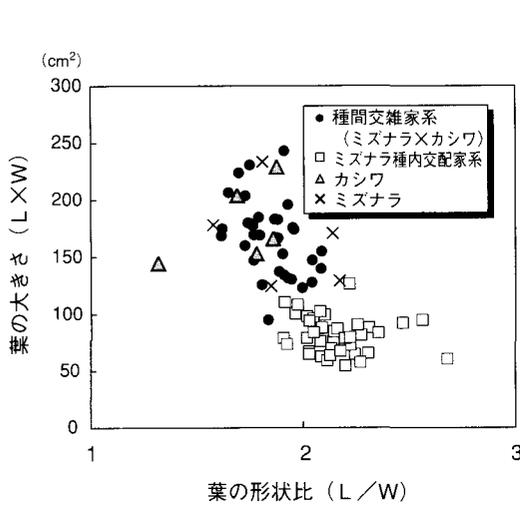


図3-3-2 葉の形状比と大きさとの関係

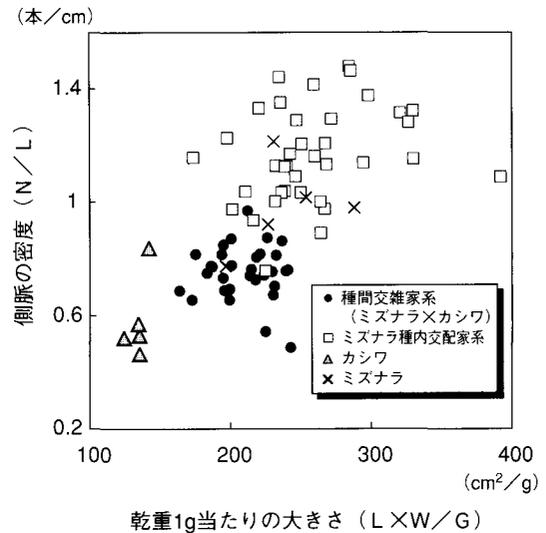


図3-3-3 葉の側脈の密度と乾重1g当たりの大きさとの関係

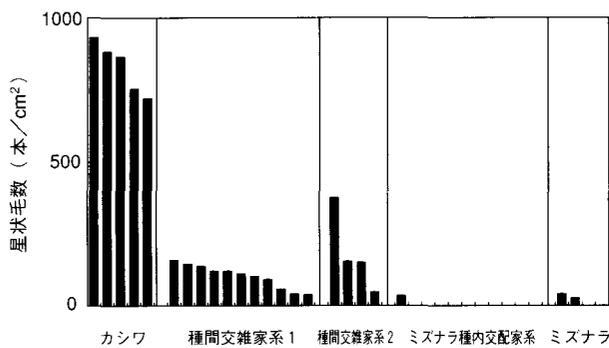


図3-3-4 個体別葉の平均星状毛数

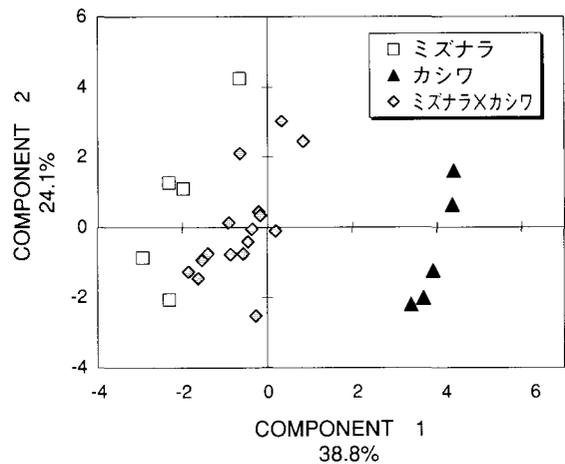


図3-3-5 ミズナラ、カシワおよび種間雑種（ミズナラ x カシワ）の葉形質の主成分分析の結果

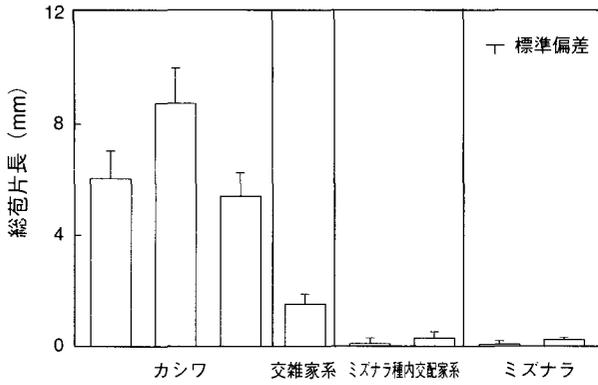


図3-3-6 個別別殻斗の総苞片の長さ

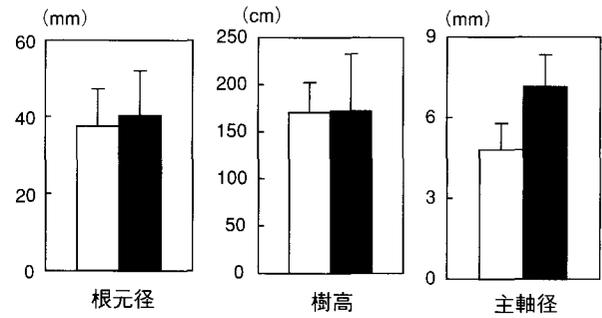


図3-3-7 ミズナラ種内交配家系とミズナラ×カシワ交雑家系の成長および主軸径の比較

□ ミズナラ種内交配家系 ■ 交雑家系

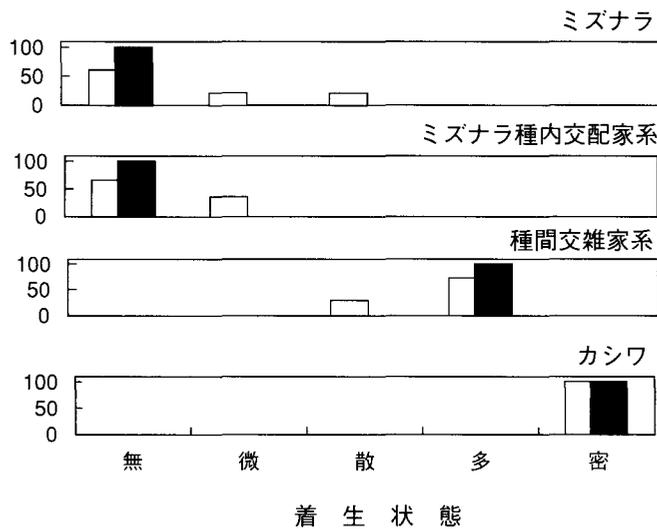


図3-3-8 冬芽の絹毛・当年枝の星状毛着生頻度分布

□ 冬芽の絹毛 ■ 当年枝の星状毛

IV. 考察

今回調査したすべての形質について、ミズナラ、カシワ、ミズナラ種内交配家系および交雑家系の比較を表3-3-2に示す。交雑家系はミズナラ種内交配家系に比べ、葉が大きくかつ形状比が小さく側脈数が少ない、当年枝が太く、殻斗の総苞片が長い、葉裏、当年枝、冬芽に星状毛や絹毛が多い、といったカシワに近い特徴を持つことが明らかとなった。全ての形質をとおして、ミズナラ×カシワ人工交雑個体は、ミズナラとカシワの中間に位置するが、雌性親であるミズナラにより近いことがわかった。

表3-3-2 ミズナラ, ミズナラ種内交配家系, ミズナラ×カシワ交雑家系およびカシワの諸形質の比較

	葉								
	L 葉身長	W 葉身幅	L'/(L+L') 葉柄比	L*W 大きさ	L/W 形状比	N/L 側脈の密度	K 側脈角度	L*W/G 大きさ/乾重	星状毛
ミズナラ	大	広	中	大*	小	高		大	微
ミズナラ種内交配家系	小*	狭*	小*	小*	大*	高*	n. s.	大*	微*
ミズナラ×カシワ交雑家系	大*	広*	中*	大*	小*	低*	n. s.	中*	多*
カシワ	大	広	大	大	小	低		小	密

	樹高	根元径	当年枝		冬芽	殻斗
			主軸径	星状毛	絹毛	総苞片露出長
ミズナラ				無	微	短
ミズナラ種内交配家系	n. s.	n. s.	細*	無	微	短*
ミズナラ×カシワ交雑家系	n. s.	n. s.	太*	多	多	中*
カシワ				密	密	長

注) *は、t-検定によりミズナラ種内交配家系とミズナラ×カシワ交雑家系に有意差が認められた ($p < 0.05$) ことを示し、n. s. は、認められなかったことを示す。

第 4 節 ミズナラ×カシワ種間雑種の花粉表面の形態

I. はじめに

光学顕微鏡を用いた花粉形態観察では、属レベルまでは、はっきりと区別できるが、種までは見分けられないことが多い(岩波, 1980)。近年、電子顕微鏡が用いられるようになり、種の識別が可能となった。コナラ属でも、走査型電子顕微鏡で種間の識別が可能なが報告されている(Miyoshi, 1981; 藤木ら, 1996)。

花粉の表面形態でミズナラとカシワの種間雑種の識別が可能かどうか検討するために、ミズナラ、カシワおよび人工交雑により創出した種間雑種(ミズナラ×カシワ)の花粉の表面構造を走査電子顕微鏡(SEM)で観察し、比較した。また、平行してミズナラおよびカシワの種内個体間差も調査した。

II. 材料と方法

河野ら(1991)により創出されたミズナラ×カシワ種間雑種個体が、林木育種センター北海道育種場内の試験園に植栽されている。この中に、6年生で雌花を、8年生で雄花を生産し始めた個体がある。このミズナラ×カシワ人工交雑個体3個体から採取した花粉を供試した。比較のために、ミズナラ3個体、カシワ3個体から採取した花粉も併せて用いた。

1998年の5月下旬から6月上旬にかけて、花粉飛散直前の雄花穂を採取し、グラシン紙製の袋内で乾燥させ、花粉を採取した。図3-4-1に、走査電子顕微鏡用試料の作成方法を示した。

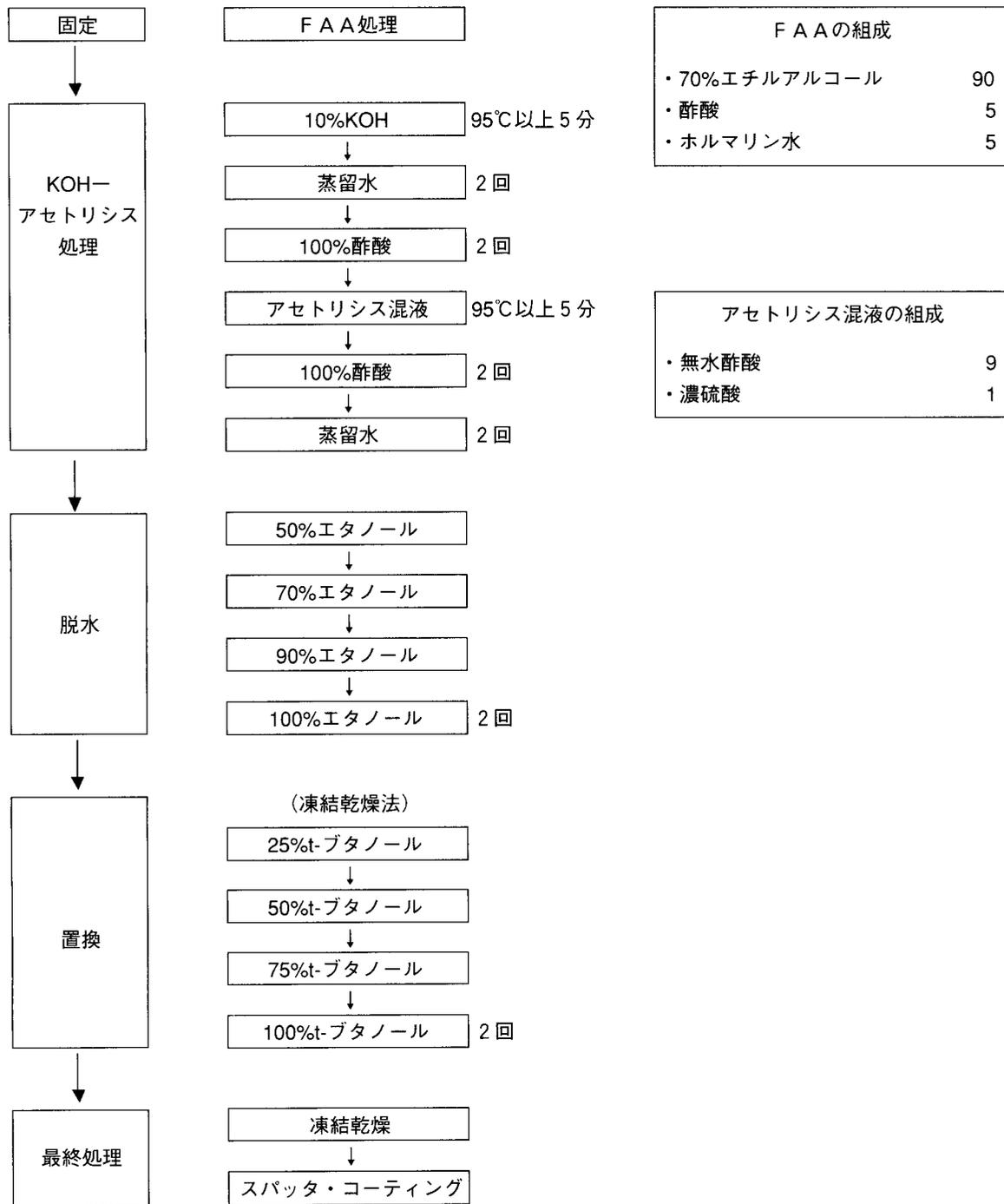


図3-4-1 花粉粒の形態を観察するための試料作成手順

Ⅲ. 結果および考察

ミズナラ、カシワおよびミズナラ×カシワ交雑個体の花粉の全体像を図3-4-2に、表面形態を図3-4-3に示す。ミズナラおよびカシワ花粉の表面構造は、従来の報告（Miyoshi, 1981；藤木ら, 1996）とほぼ同様に、それぞれ粗粒型顆粒状紋と金平糖型顆粒状紋が観察されたが、ミズナラの中には、イボ型顆粒状紋を示した個体もあった。人工交雑個体は、顆粒の突起が鈍角でミズナラとカシワの中間の構造が観察された。

ミズナラ×カシワ人工交雑個体は、表面の突起が両親種であるミズナラとカシワの中間の形態をとることが確認されたが、突起の大きさや密度は、個体間差が大きかった。花粉の形態から種間雑種を判定するためには、ミズナラおよびカシワの種内変異の幅を確認しておく必要があると考えられた。

花粉分析の結果、北海道は、約8000年前ころからコナラ属の花粉が急増し、広葉樹林が分布を拡大したことが報告されている（五十嵐, 1986；山田, 1998）。しかし、これらの花粉がコナラ属のどの種かは明らかにされておらず、種ごとの現在までの分布の変遷を明らかにするためには、花粉による分類手法を確立する必要がある。ミズナラとカシワの分布の変遷過程や種間交雑がどの地域でいつ頃から起こったかを推定できれば、現在のミズナラの地理的変異が生じた要因の解明に寄与できると考える。

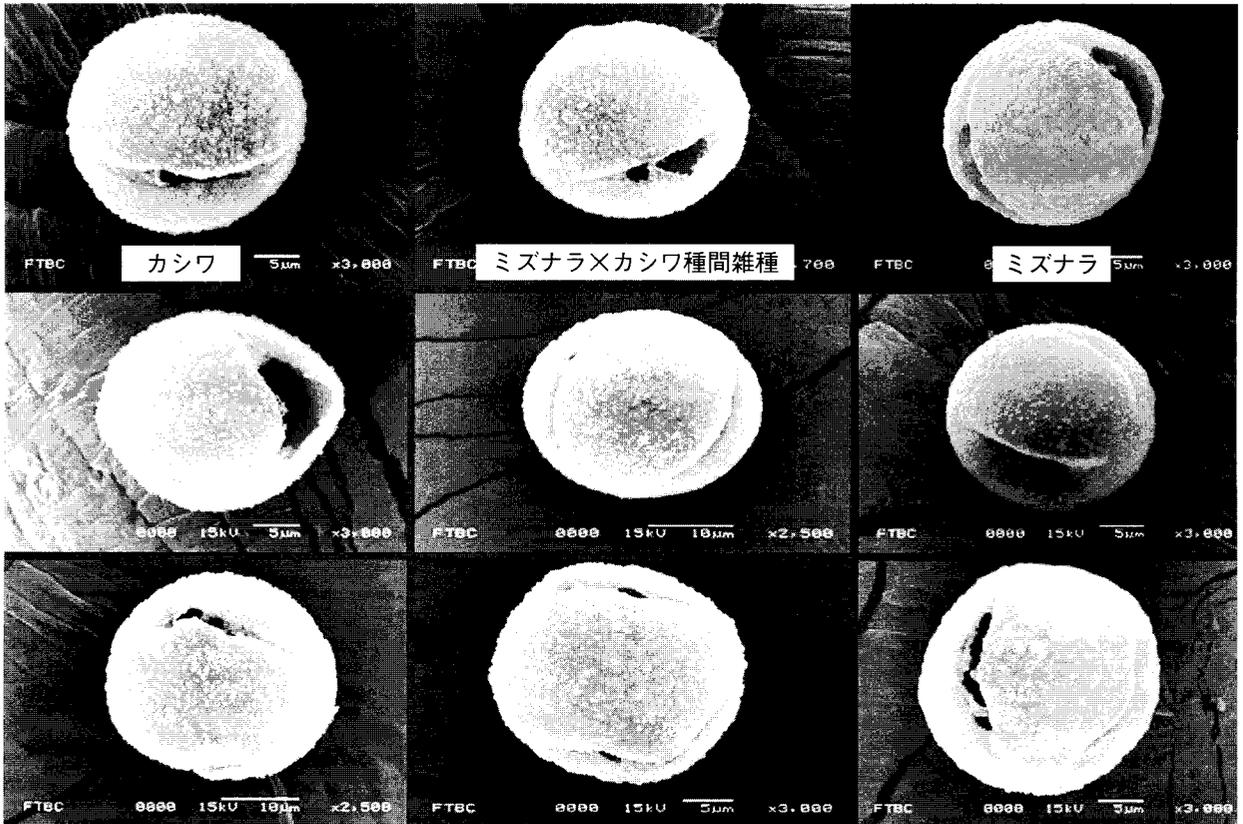


図3-4-2 走査型電子顕微鏡による花粉形態の比較 (2,500~3,000倍)

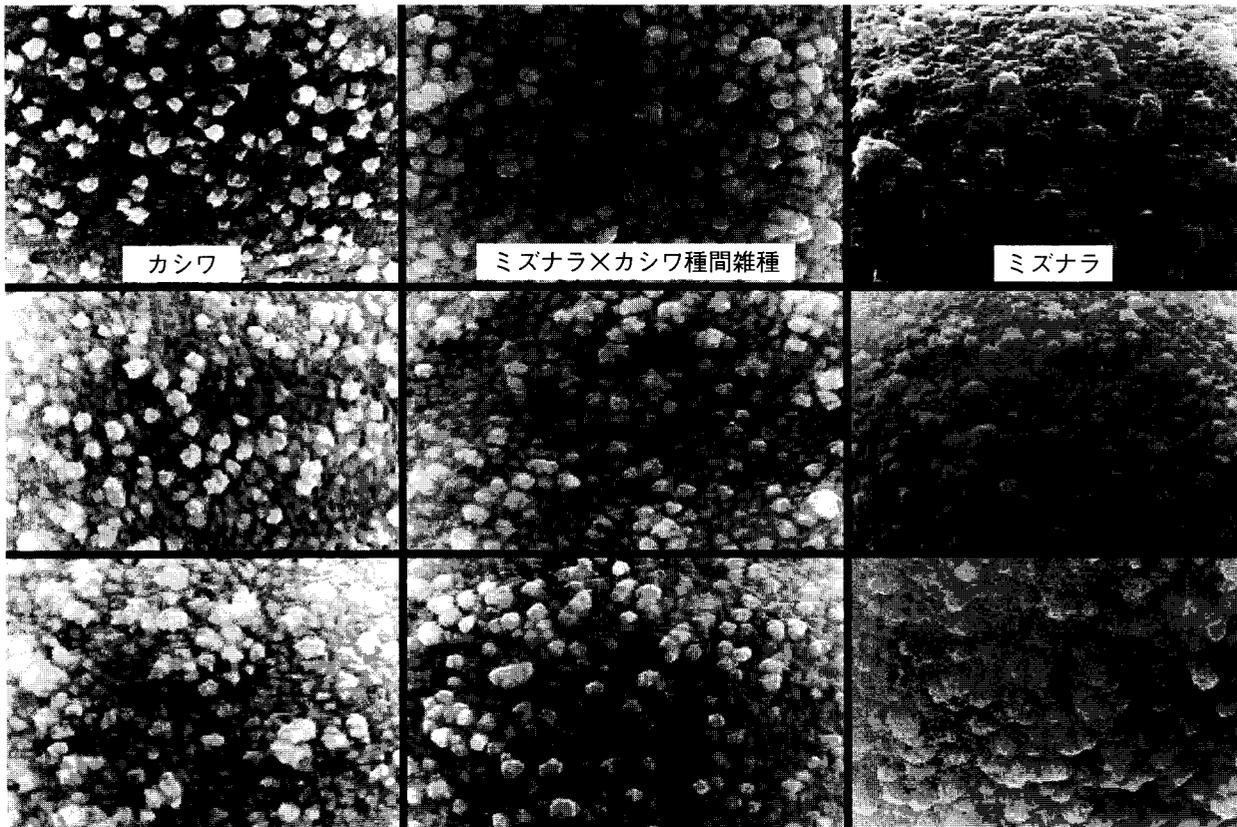


図3-4-3 走査型電子顕微鏡による花粉形態の比較（10,000倍）

第5節 ミズナラ×カシワ種間雑種の繁殖特性

I. はじめに

人工交雑によって創出されたミズナラ×カシワの種間雑種（河野ら，1991）の繁殖能力および種間雑種と両親種との交雑和合性を調査した。さらに，種間雑種と両親種との自然交雑の可能性を検討するため，ミズナラ×カシワの種間雑種個体，ミズナラの種内交配個体および両親種について，雌花の開花時期と花粉の飛散時期を調査した。

II. 材料と方法

1987年に河野ら（1991）によって，ミズナラを雌性親に，カシワおよびミズナラを花粉親にした人工交配が行われ，種間雑種および種内交配家系が創出された。これらを植栽した試験園が1990年に江別市の北海道育種場内に設定された。この試験園で1997年と1998年の両年にわたって下記に示す①～⑤の調査を行った。なお，この試験園の種間雑種は，葉や殻斗等が両親種の間形の形態を示すこと（生方ら，1996），また開葉がミズナラの種内交配個体より遅れること（生方ら，1994）が報告されている。この試験地では，植栽家系の環境による系統誤差を取り除くために，家系ごとに5個体を単位としたプロットがランダムに配置されている。

- ① 1997年および1998年の9月下旬に試験地の全個体からすべての成熟堅果を採取し個体ごとに堅果数を調査した。また家系ごとの堅果着生個体率（堅果着生個体数／家系の全個体数）を求めた。

- ② 1997年に採取した堅果のうち、堅果数の多かった種間雑種 3 個体（平均樹高4.1m, 平均胸高直径6.1cm）および種内交配個体 3 個体（平均樹高3.1m, 平均胸高直径3.4cm）の全堅果を1998年春に苗畑に播種し、発芽率を調査した。これらの堅果は、播種前に重量を測定し、同年の10月に伸長が停止した時点で苗高を測定した。種間雑種個体と種内交配家系個体について、堅果重と苗高の共分散分析により当年生苗の成長を比較した。
- ③ 1998年 5 月に試験地内の全個体について雄花着生の有無を調査した。堅果と同様に家系ごとの雄花着生個体率（雄花着生個体数/家系の全個体数）を求めた。また、種内交配個体および種間雑種のそれぞれ 8 個体について花粉の発芽率を調査した。発芽試験は、直径 9 cmのシャーレに分注したpH6.5, 寒天 1%, しょ糖 20%の寒天培地（橋詰, 1975）を用いた。花粉を散布したシャーレを25℃の恒温器に入れ、2日後光学顕微鏡で花粉100個中の発芽数をカウントした。発芽試験は 3 回繰り返す、平均発芽率を求めた。なお、花粉管が花粉粒の直径よりも長く伸びているものを発芽とした。
- ④ 1998年 5 月から 6 月にかけて、試験地内の着花がみられた個体について花粉の飛散時期、雌花の開花時期を調査した。花粉の飛散時期は、花粉が飛散し始めてから個体内の全ての雄花穂が花粉を放出し終わるまでとした。雌花の開花期間は、個体内の最も早い雌花の柱頭が確認されてから、最も遅い雌花の柱頭が乾燥し先端が黒変するまでとした。比較のために、北海道育種場内のミズナラ 4 個体、カシワ 1 個体についても同様の調査を行った。なお、このミズナラ 4 個体は、種間雑種の雌性親であり種内交配家系個体の両親個体である。
- ⑤ 1998年に種間雑種 3 個体を雌性親とし、ミズナラ 1 個体およびカシワ 1 個体を花粉親とする人工交配を行った（本章第 2 節表3-2-1参照）。カシワの花粉は、前年に採取し 1 年間-80℃の冷凍庫で保存したものをを用いた。5月中旬に交配袋を掛け、5月28日および30日に花粉を噴射し、6月中旬に交配袋をはずした。9月下旬に成熟堅果を採取し、交配組合せごとの堅果結果率（成熟堅果数/雌花数）を求めた。交配の方法、用いた器具等は、第 3 章第 2 節 II と同様である。

Ⅲ. 結 果

1997年および1998年において、各年で堅果着生数の多かった上位10個体ずつ計18個体の堅果数を図3-5-1に示す。1997年に多く着果した個体は1998年には少ない傾向がみられた。両年を合計して最も多く堅果を着生したのは種間雑種個体であり、上位10個体のうち1997年には 4 個体が、1998年には 3 個体が種間雑種個体であった。交配家系別の堅果着生個体の割合を図3-5-2に、雄花着生個体の割合を図3-5-3に示す。種間雑種の 2 家系は、堅果着生個体率が1997年では、23.3%と30%で他家系に比べ高く、1998年でも 1 家系が13.3%と高かった。1998年の雄花着生個体率は、種間雑種の 1 家系は 0%だったが、他の 1 家系は30%と全家系間のなかで最も高かった。

個体別の堅果発芽率を図3-5-4に示す。種間雑種個体の堅果発芽率は、最高82.9%、最低38.5%、種内交配個体のそれは、最高83.9%、最低43.2%であった。種間雑種個体と種内交配家系個体の堅果の発芽率の間には、*t*-検定の結果有意差が検出されなかった。図3-5-5に種間雑種および種内交配個体の堅果重と当年生苗の苗高の関係を示す。堅果重の平均値は、種間雑種が1.99g、種内交配家系個体が2.26gであった。また、苗高の平均値は、前者が10.6cm、後者が8.0cmであった。ミズナラでは堅果重と当年生苗の苗高間に正の相関があることが知られている（桜井・斉藤1984；小山, 1995）。苗高に対する堅果重の影響を除くために、堅果重と苗高について共分散分析を行った（表3-5-1）。堅果重の影響を除いた種間雑種と種内交配家系個体由来の当年生苗の苗高について著

しい有意差が検出された (F 値 = 31.35; $p < 0.001$)。しかし、両者の回帰直線の傾きには有意差が検出されなかった (F 値 = 1.07; $p > 0.05$)。

種間雑種個体および種内交配家系個体の花粉発芽率の平均値および標準偏差を図3-5-6に示す。平均値は種間雑種が75.3%、種内交配家系個体が73.9%であった。 t -検定の結果両者の平均値間に有意差は検出されなかった。

今回調査したミズナラおよび種間雑種の個体内における開花の進み方は、雌花がまず開花し数日遅れて花粉の飛散が始まった。花粉の飛散期間は約2~4日で、雌花の開花期間は、約2週間であった。多くのコナラ属の種について繁殖システムが要約されており、花粉の飛散は花序単位で2~4日、花柱の受容期は、花序単位で6~14日であるとされている (Ducouso *et al*, 1993)。系統別の雌花の開花個体数および花粉飛散個体数の推移を表3-5-2に示す。ミズナラおよびミズナラ種内交配家系個体が最も早く開花し、種間雑種個体がそれに続き、カシワは最も遅かった。

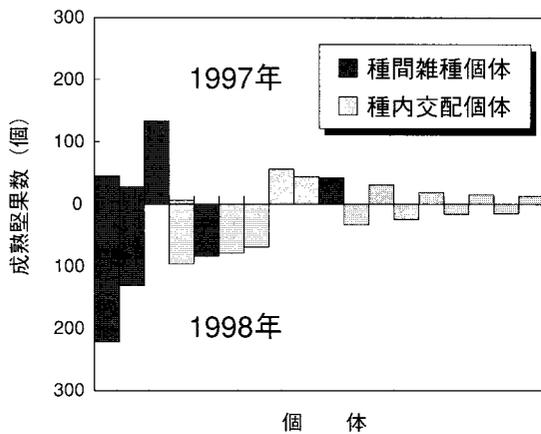


図3-5-1 1997年および1998年の個体別成熟堅果数

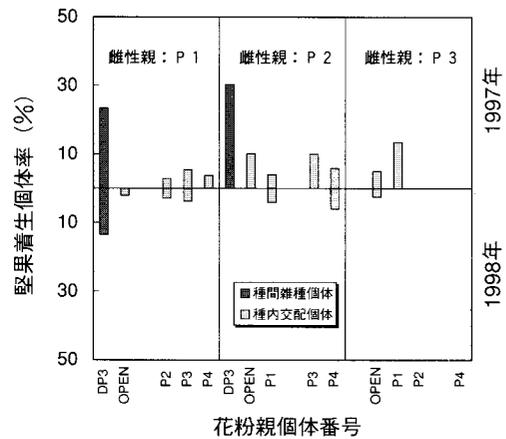


図3-5-2 交配家系別の堅果着生個体の割合

堅果着生個体率は、家系内全個体に対する堅果着生個体の割合を示す。
花粉親個体番号のDP3はカシワ、P1、P2、P3、P4はミズナラ、OPENは自然受粉を示す。

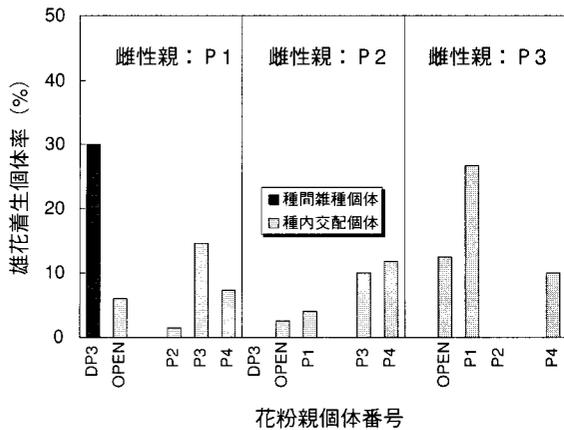


図3-5-3 交配家系別の雄花着生個体の割合 (1998年)

雄花着生個体率は、家系内全個体に対する雄花着生個体の割合を示す。
花粉親個体番号は、図3-5-2と同様である。

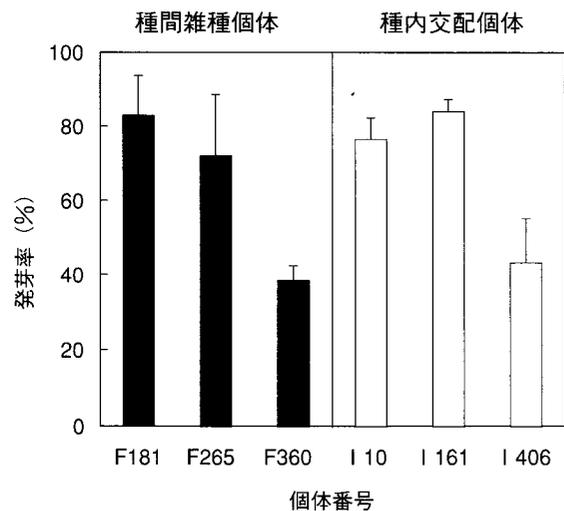


図3-5-4 個体別堅果の発芽率

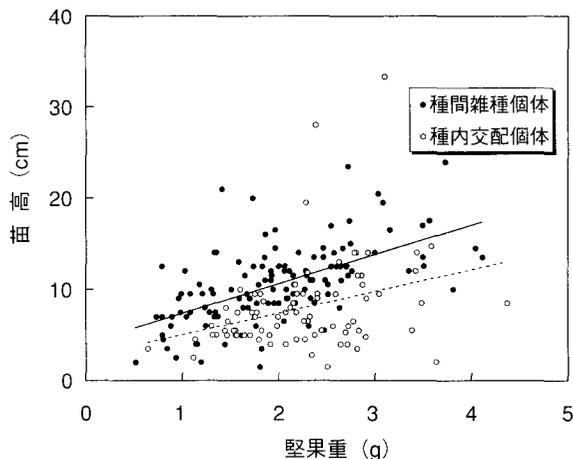


図3-5-5 種間雑種（ミズナラ×カシワ）およびミズナラ種内交配家系個体から採取した自然受粉堅果の重量と当年生苗高との関係

図中の実線は、種間雑種から採取した堅果の重量に対する苗高の回帰直線を示し、点線は、種内交配個体から採取した堅果の重量に対する苗高の回帰直線を示す。

表3-5-1 堅果重と当年生苗の苗高の共分散分析表

要因	自由度	堅果重平方和	積和	苗高平方和	残差自由度	残差平方和	差	平均平方	F
種間雑種	119	71.51	229.65	2243.90	118	1506.41			
種内交配	79	36.46	85.96	1936.72	78	1734.10			
組内残差の和					196	3240.51		16.53	1.07 n.s.
回帰係数の差					1		17.62	17.62	
回帰係数一定のときの残差	198	107.98	315.61	4180.62	197	3258.13		16.54	31.35 ***
系統	1	3.58	-33.31	310.39	1		518.50	518.50	
全体	199	111.55	282.30	4491.01	198	3776.63			

注) ***：0.5%水準で有意、n.s.：有意差なし。

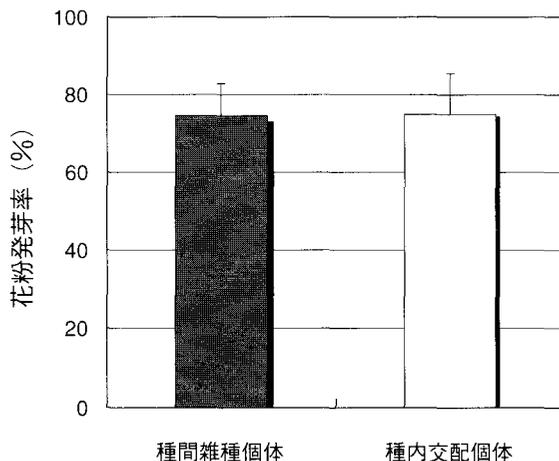


図3-5-6 種間雑種（ミズナラ×カシワ）およびミズナラ種内交配個体の花粉発芽率

表3-5-2 雌花開花個体数および花粉飛散個体数の推移 (1998年)

調査日	5/15	5/18	5/20	5/22	5/24	5/26	5/28	5/30	6/1	6/3	6/5	6/8	6/12	6/16
ミズナラ 雌花		1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2		
ミズナラ 花粉			1	4	4	3	1							
種内交配 雌花		4	11	13	13	13	13	13	13	13	12	11		
種内交配 花粉				8	14	11	7							
種間雑種 雌花					3	5	5	5	5	5	5	5	4	
種間雑種 花粉						2	5	5	5	2				
カシワ 雌花										1	1	1	1	1
カシワ 花粉												1	1	

注) 表中の数字は、各調査日で雌花開花または花粉飛散が確認された個体数を示す。

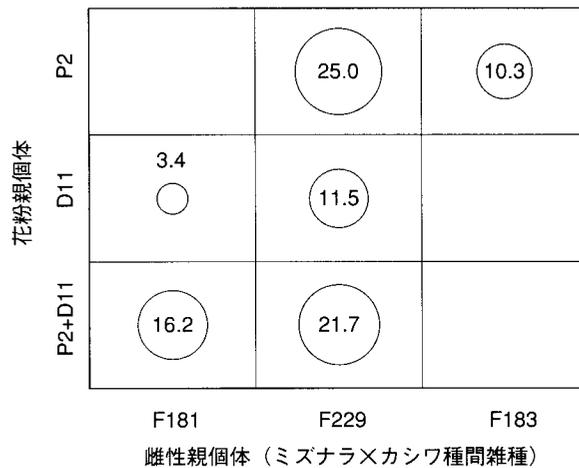


図3-5-7 種間雑種 (ミズナラ×カシワ) を雌性親とした人工交配の結果

図中の数字は、結果率 (成熟堅果数 / 雌花数 × 100) を示す。雌性親個体のF181, F183, F229は種間雑種 (ミズナラ×カシワ) を、花粉親個体のP2はミズナラ, D11はカシワを示す。P2 + D11は混合花粉を示す。

種間雑種を雌性親とし、ミズナラ、カシワを花粉親とした人工交配の結果率を図3-5-7に示す。9組合せのうち、3組合せで堅果が得られなかったが、種間雑種×ミズナラおよび種間雑種×カシワのそれぞれ2つの組合せで堅果が得られた。結果率は、種間雑種×ミズナラで0～25.0%、種間雑種×カシワで0～11.5%であった。

IV. 考察

人工交配で創出したミズナラ×カシワの種間雑種の繁殖能力を調査した結果、樹齢10年生程度の若齢個体において、個体間差はあるものの、十分に花粉や堅果の生産能力があることが明らかとなった。

ヨーロッパのコナラ属では種間の中間的な形態を持つ個体の花粉発芽率が低いという報告 (Rushton, 1993) があるが、ミズナラ×カシワの種間雑種個体では、ミズナラ種内交配家系個体と同等の高い花粉発芽率を示した。雄花着生個体率も高かったことから、花粉親としても交配に関与する可能性が推察された。

ミズナラ×カシワの種間雑種とミズナラ種内交配家系個体の自然受粉堅果を播種し発芽率を比較したところ、

両者間に有意差が認められなかった。しかし、当年生苗の苗高については、種間雑種由来の苗の方が良い成長を示した。これらのことから種間雑種は自然受粉で種内交配個体と同様に稔性や成長性において遜色のない次世代を残す能力を持つことが示唆された。

本調査では、ミズナラ×カシワ種間雑種は、雌花の開花期および花粉の飛散期が両親種であるカシワとミズナラのはほぼ中間に位置していた。また、この種間雑種は、ミズナラおよびカシワとの人工交配によって堅果を生産することが確認された。ミズナラとカシワの開花期に比べてこの種間雑種は、両親種と開花期が大きく重なることから、容易に両親種と交雑すると考えられる。

種間雑種が繁殖能力を持つということは、2種の間に様々なレベルの雑種が形成され、片方の種の持つ遺伝子がもう一方の種へ移入（遺伝子移入；introgression）される可能性を示している。北海道において、ミズナラとカシワの形質を様々な程度で併せ持つ個体の存在が知られており、浸透性交雑ではないかと考えられている（大場，1989）が、今回の結果は、このことを裏付ける有力な証拠となる。また、*Quercus petraea*、*Quercus robur*、*Quercus pubescent*といったヨーロッパのコナラ属で同一地域に分布する複数の種が同一の葉緑体DNAのタイプを共有しているという報告（Petit *et al.*, 1993；Ferris *et al.*, 1998）がある。被子植物では、一般に葉緑体DNAやミトコンドリアDNAといった核DNA以外のオルガネラDNAは、雌性親のみから次世代へ遺伝する（母性遺伝）とされている。コナラ属の樹種は、繁殖能力を持つ種間雑種を媒介にし、戻し交雑を繰り返すことによって、葉緑体DNAやミトコンドリアDNAを種間で交換していることが推察される。

第 6 節 天然林内での種間交雑の検証

I. はじめに

北海道の天然林では、コナラ属のそれぞれの種の中間の形態を持つ個体の存在が指摘されている（宮崎，1988）。本章第 2 節で、ミズナラとカシワは、相互に交雑する能力があることがわかったが、天然林内で実際に自然交雑が起こっているかを明らかにするため、人工交雑により創出されたミズナラ×カシワ種間雑種個体および両親種と天然林内の個体との葉および堅果の形態を比較した。

II. 材料と方法

北海道千歳市郊外のミズナラを主とする天然林（北海道森林管理局石狩森林管理署恵庭事務所291林班）に200m×150m（3 ha）の調査区（第 1 章第 2 節図1-2-1参照）を設定した。本節では、この調査区内の南西部分の100m×100m内にある全ての林冠木（54個体）を調査対象とした。採取個体の位置を図3-6-1に示す。調査対象個体および調査区内の全個体の胸高直径階分布を図3-6-2に示す。1996年8月に対象個体から正常に成長したと考えられる葉を10枚ずつ採取した。できる限り、シュート先端（樹冠表面）で日光が直接あたる葉を採取した。測定対象形質および測定方法は、本章第 3 節と同様である。また、葉の採取の際に堅果が着生していた個体が19個体あったが、これらについても第 2 節と同様に、殻斗の鱗片の露出長を測定した。

本章 3 節において、ミズナラ×カシワ人工交雑個体およびその両親種の葉の形態の主成分分析を行ったが、その図上に対象個体をプロットした。

当調査区を本節の調査対象とした理由は、近距離にカシワを主体とした林分があり、この調査区周辺にもカシワが単木的に分布しており、自然交雑が起こっている可能性が高いと考えたためである。

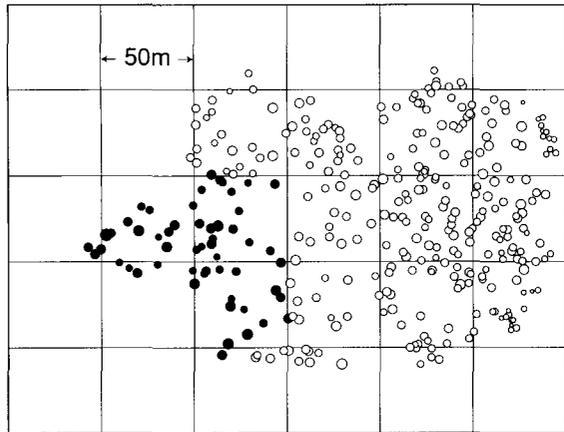


図3-6-1 葉採取個体位置図

●：葉採取個体 ○：その他

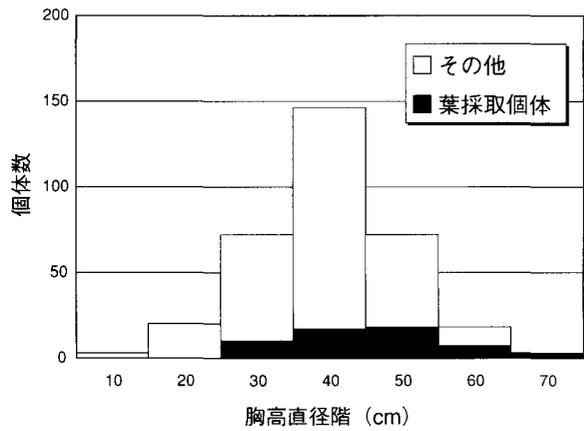


図3-6-2 葉採取個体および全体の胸高直径階分布

Ⅲ. 結果

葉形質の測定結果を表3-6-1に示す。当天然林のミズナラの葉は、全体的に小さく、側脈数が少なく、薄い（葉面積比が大きい）傾向がみられた。

葉の主成分分析の結果を図3-6-3に示す。調査地の個体は、葉の形態がミズナラに近いものからカシワに近いものまで連続的に分布していることがわかった。

表3-6-1 葉の諸形質の平均値

	葉身長 (cm)	葉柄長 (mm)	葉身幅 (cm)	側脈角度 (°)	側脈数	形状比	葉柄比	葉面積 (cm ²)	側脈密度 (本/cm)	葉身長比	葉面積比 (cm ² /g)	鋸歯型
カシワ	17.3	8.8	10.3	37.5	10.2	1.7	0.052	95.6	0.61	0.42	69.0	6.2
ミズナラ	17.6	5.3	9.4	43.3	17.0	1.9	0.031	88.2	0.99	0.41	122.4	3.6
種間雑種	17.5	5.5	9.4	43.5	13.1	1.9	0.031	87.6	0.76	0.37	110.5	5.3
天然林	14.3	5.8	8.2	37.9	11.8	1.8	0.042	64.5	0.85	0.46	140.8	3.5

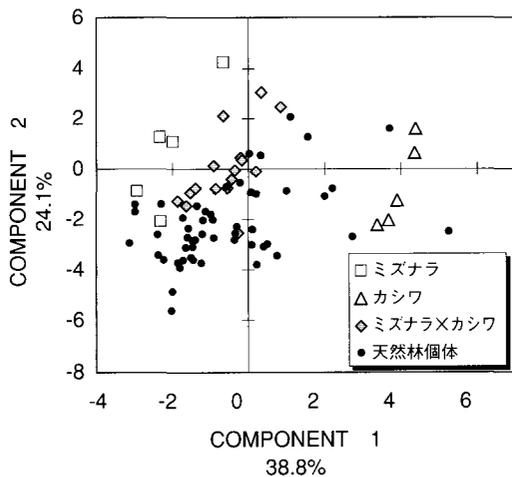


図3-6-3 天然林個体とミズナラ、カシワ、種間雑種の葉形質の比較

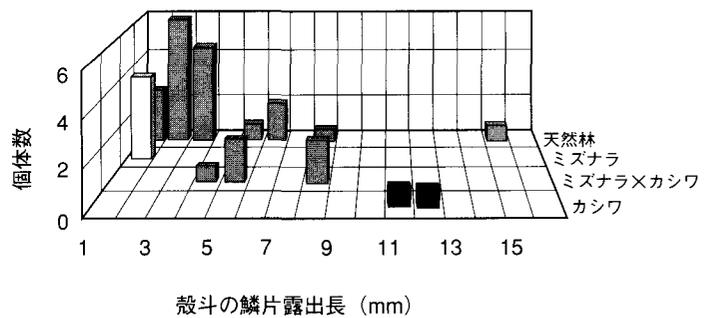


図3-6-4 天然林個体とミズナラ、カシワ、種間雑種の殻斗鱗片露出長の比較

殻斗の鱗片の露出長の分布を図3-6-4に示す。最大露出長は、6.9mm、全く露出しない個体もみられた。全体的に1mm以下の個体が多かったが、2～3mm程度の個体や7mm程度の個体も存在した。

IV. 考 察

近くにカシワ林があるミズナラ天然林の54個体について、葉と堅果の形質を測定したところ、両形質ともミズナラに近い個体から、カシワに近い個体まで存在することがわかった。ミズナラの葉の形質は、環境の影響を受けやすく、反復率が比較的低い（第4章第5節）が、比較的環境の影響を受けにくいと考えられる殻斗の形質においてもミズナラやカシワに近いものだけでなく、両種の間位置する個体もみられた。ミズナラとカシワは、相互に交雑和合性（本章第2節）があり、開花時期等の環境条件が整えば自然雑種の形成も可能と考えられる。また、ミズナラ×カシワ種間雑種は、十分な稔性を持ち、両親種との交雑和合性が確認されている（本章第5節）。さらにこの種間雑種の開花時期は、両親種の間となることから、一度ミズナラとカシワの種間雑種が形成されると両親種との新たな交雑が容易に行われるものとする。今回得られた結果は、一つの林分内にミズナラとカシワの様々なレベルの雑種が存在することの証拠となると思われる。

両形質とも、ミズナラとカシワの間よりややミズナラよりに多くの個体が分布していることから、この林分には、ミズナラ、カシワ、ミズナラ・カシワ間の雑種個体および雑種とミズナラとの戻し交雑個体が存在していることが示唆された。

第4章 北海道におけるミズナラの地理的変異

第1節 目的および研究史

種は、様々な変異を保有しており、同種でも個体により、形態等が少しずつ異なっているのが普通である。この変異は、遺伝的要因と環境的要因とにより生じ、多くの表現形質では、この両者が様々な割合で影響を及ぼしている。育種とは、この種内変異の利用に他ならない。種内の変異は、その存在する部分により、分集団内、集団内、集団間といった階層に分割することができる。種内の変異を地理的スケールで取り扱ったものが地理的変異である。地理的変異は、種の生態的役割に密接した形質や、分化が進めば種分化に直結するような形質も含め、ほとんどあらゆる形質にみられる。地理的変異のパターンは、集団がそれらの地域環境に適応してきたものだとした場合に予想されるものと一致することが普通だが、例外もある（Futuyma, 1986）。

遺伝性や、環境に対する振る舞いの異なる様々な形質の地理的変異のパターンを相互に比較することで、対象とする種の分布が変遷してきたパターンやそれぞれの地域への適応の仕方、近縁種との関係、今後の種分化の方向性等を明らかにすることができる。また、林木育種を行う上で地域区分は重要であるが、地理的変異のパターンは、地域区分を行う際の最も重要な基礎情報となる。また、遺伝資源保存においては、このパターンにより、保存林の配置や箇所数といった保存方策を決定することが望ましいと考える。

樹木においても様々な形質を用いて、様々な種で地理的変異の研究がなされている。コナラ属に限ると、北アメリカに分布する *Quercus rubra* では、耐乾性（Deneke, 1975）、耐凍性（Pauley and Johnson, 1955; Flint, 1972）、開芽時期（Kriebel *et al.*, 1976; Schlarbaum and Bagley, 1981; Gall and Taft, 1973; Schlarbaum, 1991, Ducouso *et al.*, 1997）、アロザイム（Manos and Fairbrothers, 1987; Guttman and Weight, 1989;）

Schwarzmann and Gerhold, 1991; Daubree, 1990; Sork *et al.*, 1993) 等の変異が報告されている。ヨーロッパに分布する *Quercus robur* や *Quercus petraea* では、フェノロジー (Krahl-Urban, 1959; Oppermann, 1932; Cieslar, 1923; Burger, 1921; Hauch, 1909; Kleinschmit, 1993; Ducouso *et al.*, 1996; Kremer *et al.*, 1997), 葉の形質 (Oelkers, 1913; Rushton, 1996; 1978; Staszkievicz, 1970等), アロザイム (Kremer *et al.*, 1991; Zanetto, 1989; Muller-Starck *et al.*, 1993), 葉緑体DNA (Petit *et al.*, 1993; Ferris *et al.*, 1998) 等の変異が報告されている。

我が国のミズナラにおいては、堅果および実生の形態 (日浦ら, 1992), 堅果の形態 (山根, 1975; 斉藤, 1980; 宮崎ら, 1986; 生方ら, 1999), 葉の形態 (門松, 1983; 門松・松浦, 1983; 宮崎ら, 1986; 門松・船越, 1992; 生方ら, 1999), 成長 (松浦・田中, 1987; 田中・松浦, 1989; 宮崎ら, 1988; 倉橋・小笠原, 1988; 門松, 1988; 織田・河野, 1988, 生方, 1997), 芽鱗腋芽数 (清水ら, 1995), 開葉時期 (生方ら, 1994, 生方ら, 1999), 材質 (大澤ら, 1955a; 大澤ら, 1955b; 宮島, 1986; 深沢, 1989), アロザイム (門松, 1983; 生方, 1997), 葉緑体DNA (生方ら, 1999) 等の地理的変異が報告されている。

北海道は、東西2つの陸塊が約4,000万年前に衝突を始め、約1,000万年前に原型が形成されたとされている (小野, 1994)。中央部に日高山脈、大雪山地および北見山地が南北に走り、これらの諸山脈が北海道を気候的に大きく二つに分けている (山田ら, 1958)。また、区分する地域は若干異なるが、東西地域間で土壌 (『日本の森林土壌』編集委員会, 1983) や地形 (瀬川, 1974) 等に違いがみられる。植物の種内の地理的変異のパターンは、地史的な分布の変遷史 (河野, 1974) や地域環境 (Futuyma, 1986) 等により形成され则认为されている。北海道内に広く分布するトドマツ (岡田ら, 1970; 栄花, 1981), アカエゾマツ (岡田, 1975), エゾマツ (井出ら, 1996) の諸形質において、東西地域間差が指摘され、気候条件等と関連づけて報告されている。以上から、本章では、北海道におけるミズナラの地理的変異について、日高山脈、大雪山地および北見山地を境とした東西地域間の変異を中心に議論した。

まず、第2, 3節で母性遺伝し、選択に対して中立と考えられる葉緑体DNAの変異について議論し、第4節で選択に対して中立と考えられるアロザイムの変異についての検討を行った。次に第5節で遺伝率が低く、選択に対する中立性は今のところ不明である葉および堅果の形態の変異について、最後の第6節で環境に対して適応的に振る舞う形質と考えられる開葉時期の変異について議論した。また、第5, 6節では、カシワとの交雑が地理的変異に及ぼす影響についても議論した。

第2節 PCR-RFLP法による葉緑体DNAマーカの探索

I. はじめに

PCR-RFLP法とは、特定のDNA領域をPCR (polymerase chain reaction) により増幅し、増幅産物を制限酵素処理後、その断片長多型 (RFLP: restriction fragment length polymorphism) をエチジウムブロマイド染色等で検出する方法である。これは、(1) 極少量の植物材料でも分析できる、(2) 相同な遺伝子を増やすのでバンドの同定が容易、(3) 簡単な分析機器で短時間に情報が得られる、等の利点を持つ (河原ら, 1995)。また、今回対象とした葉緑体DNAは、被子植物では母性遺伝するといわれ、種子散布でのみ伝播するため遺伝子の流動範囲が狭く、地理的な変異を解明するのに適している。ヨーロッパに分布する *Quercus robur* では、人工交雑家系のPCR-RFLP法による分析によって、葉緑体DNAおよびミトコンドリアDNAが母性遺伝することが確かめら

れている (Dumolin *et al.*, 1995)。PCR-RFLP法を用いた報告は、マツ属 (Perez *et al.*, 1995)、サクラ属 (Badenes and Parfitt, 1995)、東南アジアのフタバガキ科 (Tsumura *et al.*, 1996) 等で主に種間の系統関係の推定に用いられている。

本節では、ミズナラの地理的変異を解明するため、PCR-RFLP法により、種内で多型がみられる葉緑体DNA マーカを検出することを目的とした。

II. 実験方法

1) 材料採取

1997年5月に北海道育種場内のコナラ属産地試験地から、ミズナラ33産地243個体、カシワ4産地14個体およびコナラ1産地10個体の計267個体から展開したてのシュートを採取した。採取したシュートは直ちにビニール袋に密封し、 -80°C の冷凍庫で保存した。

2) 実験

実験は、基本的には河原ら (1995) の方法に基づいて行った。

a) 洗 浄

多糖類やフェノール類を除去するため、液体窒素で粉碎した試料を洗浄バッファー (0.1MのHEPES, 2%の2-メルカプトエタノール, 1%のポリビニルピロリドン, 0.05Mのアスコルビン酸) に加え, ローテータで混和の後, 遠心分離した。このステップを3度繰り返した。

b) 抽 出

DNAを抽出するため、ISOPLANT ((株) ニッポンジーン製) を用いた。

c) RNase処理およびフェノール処理

抽出したDNAからRNAやタンパク質を除去するため、Rnase処理 (37°C , 30分) を1回, フェノール処理を2回行った。

d) PCR

この精製DNAは分光光度計 (200nm) を用いて定量した後, 9セットのユニバーサルプライマ (Demesure *et al.*, 1995, 表4-2-1) を用いて, PCRにより目的のDNA領域を増幅するための鋳型とした。増幅の条件は, 94°C 2分, 45°C 2分, 60°C 3分を1回, 次いで 94°C 1分50秒, 45°C 2分, 60°C 3分を30回, 最後に 72°C 15分を1回である。

e) 制限酵素処理

PCR産物を12種類の制限酵素 (表4-2-2) で切断した。

f) 泳 動

ミニゲル泳動槽 (ミュービッドII, (株) アドバンス) を用い, 2%のアガロースゲルで電気泳動した (100V , 30分)。泳動後, 直ちにエチジウムブロマイドで染色を行った (30分)。

III. 結果および考察

表4-2-1に今回使用したユニバーサルプライマの塩基配列 (Demesure *et al.*, 1995) を示す。9セットのうち今回の条件では, プライマセットNo 1, 2, 3, 4, 5および9の6セットで増幅が確認された。表4-2-2にプ

ライマと制限酵素の組合せにおける多型の有無を示した。全72通りの組合せのうち、ただ一つ（プライマセットNo 3で増幅されたDNA（*trnC-trnD*スペーサー領域）を*EcoR*Iで切断）で多型が検出された（図4-2-1）。約3,000bpのPCR産物が切断されないタイプ（Aタイプ）と約2,100bpと約900bpに切断されるタイプ（Bタイプ）の2タイプが確認された。これは両タイプ間で、増幅領域の中に*EcoR*Iの認識部位（6塩基）に1塩基以上の塩基置換があることを示している。今回用いた267個体のうち、83%がAタイプで、17%がBタイプであった（図4-2-2）。このうち、カシワの4産地14個体は全てAタイプ、コナラの1産地10個体は、A、B両タイプが混在していた。

表4-2-1 実験に用いたユニバーサルプライマの塩基配列

プライマセット No	プライマ1	塩基配列	プライマ2	塩基配列
1	<i>trnH</i> [tRNA-His(GUG)]	5'-ACGGGAATTGAACCCGCGCA-3'	<i>trnK</i> [tRNA-Lys(UUU)exon1]	5'-CCGACTAGTCCGGGTTCGA-3'
2	<i>trnK</i> [tRNA-Lys(UUU)exon1]	5'-GGGTTGCCCGGGACTCGAAC-3'	<i>trnK</i> [tRNA-Lys(UUU)exon2]	5'-CAACGGTAGAGTACTCGGCTTTTA-3'
3	<i>trnC</i> [tRNA-Cys(GCA)]	5'-CCAGTCAAATCTGGGTGTC-3'	<i>trnD</i> [tRNA-Asp(GUC)]	5'-GGGATTGTAGTTCAATTGGT-3'
4	<i>trnD</i> [tRNA-Asp(GUC)]	5'-ACCAATTGAACACTACAATCCG-3'	<i>trnT</i> [tRNA-Thr(GGU)]	5'-CTACCACTGAGTTAAAAGGG-3'
5	<i>psbC</i> [ps II 44kd protein]	5'-GGTCGTGACCAAGAACCAC-3'	<i>trnS</i> [tRNA-Ser(UGA)]	5'-GGTTCGAATCCCTCTCTC-3'
6	<i>trnS</i> [tRNA-Ser(UGA)]	5'-GAGAGAGAGGGATTGGAACC-3'	<i>trnM</i> [tRNA-Met(CAU)]	5'-CATAACCTTGAGGTCACGGG-3'
7	<i>psaA</i> [PS I (P700apoprotein A1)]	5'-ACTTCTGGTTCGGCGAACGAA-3'	<i>trnS</i> [tRNA-Ser(GGA)]	5'-AACCACTCGGCATCTCTCCTA-3'
8	<i>trnS</i> [tRNA-Ser(GGA)]	5'-CGAGGGTTCGAATCCCTCTC-3'	<i>trnT</i> [tRNA-Thr(UGU)]	5'-AGAGCATCGCATTTGTAATG-3'
9	<i>trnM</i> [tRNA-Met(CAU)]	5'-TGCTTTCATACGGCGGGAGT-3'	<i>rbcL</i> [RuBisCO large subunit]	5'-GCTTTAGTCTCTGTTGTGG-3'

表4-2-2 プライマセットと制限酵素の組合せによる多型の有無

制限酵素	<i>Alu</i> I	<i>Bgl</i> II	<i>Dra</i> II	<i>EcoR</i> I	<i>EcoR</i> V	<i>Hae</i> III	<i>Hap</i> II	<i>Hha</i> I	<i>Hind</i> III	<i>Hin</i> f I	<i>Msp</i> I	<i>Pst</i> I
プライマセット												
1	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
2	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
3	×	×	×	○	×	×	×	×	×	×	×	×
4	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
5	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
9	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

注) ○：多型が検出された組合せ
 ×：多型が検出されなかった組合せ

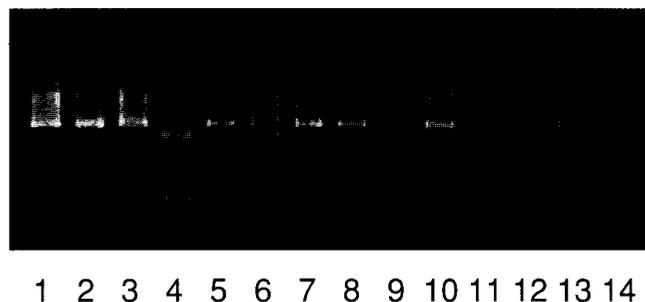


図4-2-1 ミズナラで検出された*trnC-trnD*スペーサー領域のPCR-RFLPパターン
 No4, 6は切断タイプ（Bタイプ）、それ以外は切断されないタイプ（Aタイプ）を示す。

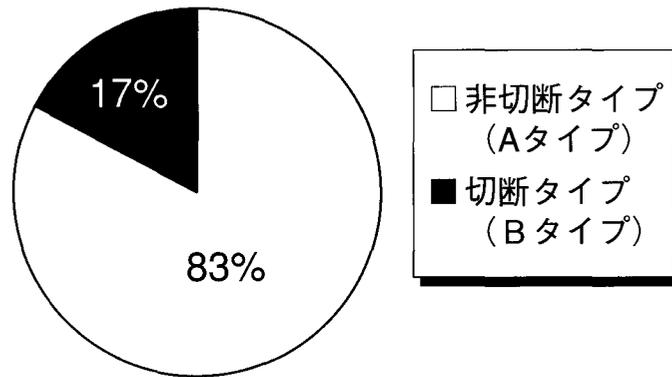


図4-2-2 プライマセット3 (*trnC-trnD*) と *EcoR I* の組合せによる両タイプの割合

第 3 節 葉緑体DNAの地理的変異

I. はじめに

北海道では、トドマツやアカエゾマツの諸形質について大雪・日高山系を隔てた東西で大きな差があることが報告されている（岡田，1975；岡田ら，1979）。本節では，前節で検出されたミズナラの葉緑体DNA多型を用いて，東西の地域間差について検討を行った。

II. 材料と方法

北海道各地から収集され，北海道江別市の林木育種センター北海道育種場内のコナラ属産地試験園に植栽されているミズナラを材料とした。33産地（1産地4～13家系，1家系1個体）について分析した。また併せて，カシワ4産地14家系およびコナラ1産地10家系の分析も行った。実験方法は，前節のとおりである。

検出された葉緑体DNAタイプの頻度を産地ごとに求め，地図上にプロットした。この頻度についてアロザイムと同様の手法で遺伝子多様度を求め，集団間と集団内とに分割し（次節参照），次節で求めたアロザイムの多様度と比較した。

III. 結果

葉緑体DNA分析では，PCRで増幅した*trnC-trnD*領域（約3,000bp）を制限酵素*EcoR I*で処理した場合，切断されずに1バンドのみが検出されるタイプ（Aタイプ）と約2,100bpと約900bpの2バンドが検出されるタイプ（Bタイプ）が確認された。このDNAマーカを用い，葉緑体DNAを2タイプに分類した。それぞれのタイプの地理的な分布を図4-3-1に示す。出現頻度の低いBタイプは，北海道南部から中央部，北部にかけての産地に分布し，北海道東部には1産地（滝上町上札久留）のみ分布していたが，他には分布していなかった。

コナラ，ミズナラおよびカシワの樹種別の葉緑体DNAタイプの頻度を図4-3-2に示す。コナラとカシワは分析した個体数が少なく北海道全体を代表しているとは考えられないが，コナラでは，Bタイプが確認されたが，カシワはAタイプのみであった。また，同一産地でカシワとミズナラを分析した産地が，3カ所あったが，すべてBタイプで樹種間差は検出されなかった。

葉緑体DNAおよびアロザイムの遺伝子多様度を集団間と集団内への分割した結果を図4-3-3に示す。アロザイムは、多様度の98%が集団内に存在した（本章第4節）が、葉緑体DNAでは、その70%が集団間に存在し、集団間差が大きかった。

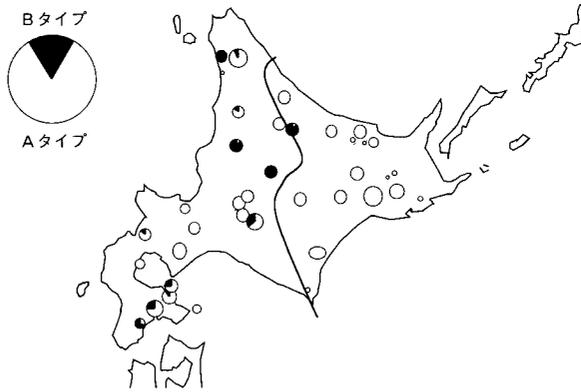


図4-3-1 2葉緑体DNAタイプの地理的な分布

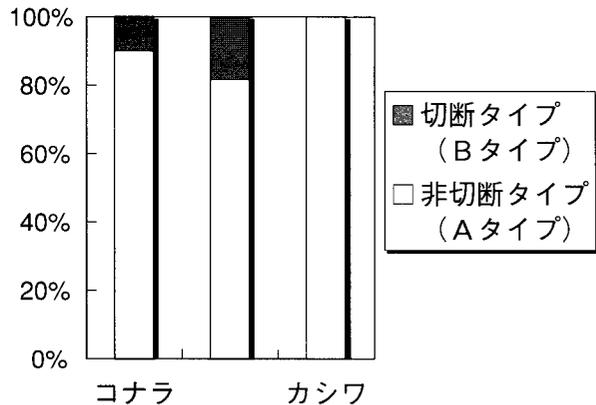


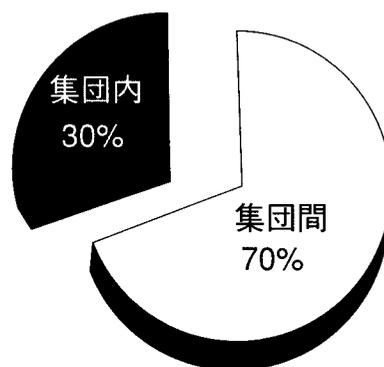
図4-3-2 樹種別の葉緑体DNAタイプの頻度

IV. 考 察

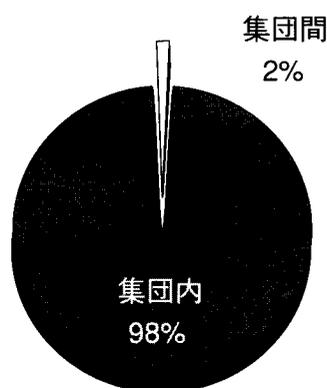
Quercus petraea, *Quercus robur*, *Quercus pubescens*といったヨーロッパのコナラ属で同一地域に分布する複数の種が同一の葉緑体DNAタイプを共有しているという報告 (Petit et al, 1993; Ferris et al, 1998) がある。今回、産地数は少ないながら、北海道のミズナラとカシワにおいても、同一産地の両種の葉緑体DNAタイプに差がなかった。また、ミズナラとコナラは、1産地ではあるが、両種とも2つの葉緑体DNAタイプを共有していた。コナラとカシワについてより多くの産地からのデータを収集する必要があるが、これらの樹種間で浸透交雑等により葉緑体DNAを交換している可能性が示唆された。

広葉樹では、葉緑体DNAやミトコンドリアDNAは雌性親のみから次世代に受け渡されるといわれている。一般に花粉と種子の移動距離は、花粉のほうが長く、特に大きな堅果を着けるミズナラは、両者の差が著しく大きいと考えられる。アロザイムの分析結果では、木本性植物の集団間の遺伝的分化の程度は低く (Hamrick and Godt, 1990), 図4-3-3のとおり、北海道のミズナラにおいても、非常に低い。アロザイムの分析結果では同様に低い集団間差を持つブナにおいても、ミトコンドリアDNAの高い集団間の遺伝的分化が報告されている (津村ら, 1997; Tomaru et al., 1997)。ミズナラの葉緑体DNAにおいても全体の遺伝子多様度の70%程度が集団間に存在する結果となり、集団の遺伝的分化の程度が高いことが推察された。

北海道においてコナラ属は、氷河期にはほとんど姿を消し約8,000年前（後氷期）から急激に分布が拡大したことが花粉分析の結果から示されている (五十嵐, 1986)。葉緑体DNAで今回検出された変異は、遺伝子間スペース領域に存在し、選択に対して中立的であると考えられる。北海道東部と西部で葉緑体DNAタイプの頻度に大きな差がみられたことは、元々の起源が異なっていることが考えられる。ミズナラの種子（堅果）は、重力散布後、齧歯類や鳥類（カケス等）によって散布され、分散範囲は比較的限られている。東西のそれぞれ地域のミズナラは、花粉による地域間の遺伝子流動はあったものの、ほとんど種子の交換が行われず、それぞれの地域に適応しながら分布を拡大したと推察される。



a) 葉緑体DNAの遺伝子多様度の分割



b) アロザイムの遺伝子多様度の分割

図4-3-3 葉緑体DNAおよびアロザイムの遺伝子多様度の集団間と集団内への分割

第4節 アロザイムの地理的変異

I. はじめに

種内の遺伝的変異を評価する指標として、以前から様々な外部形態が用いられてきた。近年、これらに加えてアイソザイムが広く用いられるようになってきた。さらに最近は、様々なDNAマーカが開発され、個体識別 (高田・白石, 1996; 後藤ら, 1997) や花粉の飛散距離の推定 (Dow and Ashley, 1996), 地理的変異の評価 (Tomaru *et al.*, 1997) 等に利用されている。しかし、アイソザイムも共優性マーカであること、実験コストが比較的安価なこと等から、林分内の遺伝構造の解析 (Schoen and Latta, 1989; Argyres and Schmitt, 1991; 本論文第2章), 林分内の交配様式の推定 (Montalvo *et al.*, 1997; Takahashi *et al.*, 1994; 河野・高橋, 1994), 採種園の自殖率の推定 (田島, 1979; 生方ら, 1994), 等に用いられている。

アイソザイムという言葉は、同じ基質特異性示しながら、異なった分子構造を持つ同一種内の酵素タンパク質に与えられた名称であり (大羽, 1977), Markert and Moller (1959) によって提唱された。アイソザイムには、様々な種類のものが含まれているが、そのうち、単一遺伝子座の複対立遺伝子によって支配されているものがアロザイム (allozyme) と呼ばれている。集団遺伝学的な研究の解析の対象となるのは、このアロザイム変異である。

アロザイムは、形態等の遺伝的指標に比べ、以下のような特長を持つ。

- ① 遺伝子 (DNA) の一次産物であるため環境の影響を受けにくい。
- ② 自然選択に対して中立であるため、消滅する危険性が少ない。
- ③ 高頻度で分布しているものから低頻度で分布しているものまで様々な遺伝子が存在している。
- ④ 対立遺伝子間に優劣性がなく共優性であるため、多くの場合、バンドパターンから遺伝子型を直接判定することが可能である。

アロザイムを用いた樹木集団の地理的変異に関する報告は、ヒノキ (Shiraishi *et al.*, 1987), オオシラビソ (Suyama *et al.*, 1992), クロマツ (Miyata and Ubukata, 1993; 宮田・生方, 1994), アカマツ (Na'iem *et al.*, 1989; Na'iem *et al.*, 1991), ポンデローザマツ (Mitton *et al.*, 1980; Woods *et al.*, 1983), ヨーロッパアカマツ (Gullberg *et al.*, 1985), ダグラスモミ (Moran and adams, 1989) ハイマツ (Goncharenko *et al.*, 1983) など多くの樹種で行われている。

本節では、アロザイムを用いて、北海道におけるミズナラの遺伝的変異を評価するとともに、遺伝的変異を集団内、地域内、地域間に分割し、ミズナラの遺伝的構造を明らかにした。

II. 材料と方法

分析対象とした林分名および林分の位置を図4-4-1に示す。北海道全域から4地域 (I~IV) を選び、各地域から2林分 (互いに10km~30km離れている) を選定した。これにより解明される遺伝的変異の階層構造は図4-4-2の模式図となる。林分内の約2haの範囲にある林冠木からランダムに選定した100~200個体について、樹高、胸高直径、位置を測定し、1993年~1996年の冬季にアロザイム実験用の冬芽を採取した。これらの冬芽は、実験に供するまで-50℃の冷凍庫で保存した。電気泳動は平板ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法で行った。試料の調整法、電気泳動法および染色法は、白石 (1987-1988) および津村ら (1990) の方法によった。解析に用いた酵素種は、アラニンアミノペプチダーゼ (AAP, 酵素番号3.4.11.1), ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP, 酵素番号3.4.11.1), メナジオンレダクターゼ (MNR, 酵素番号1.6.99.2), ホスホグルコースイソメラーゼ (PGI, 酵素番号5.3.1.9), ジアホラーゼ (DIA, 酵素番号1.6.4.3), グルタチオンレダクターゼ (GR, 酵素番号1.6.4.2), リンゴ酸脱水素酵素 (MDH, 酵素番号1.1.1.37), アスパラギン酸アミノ転移酵素 (GOT, 酵素番号2.6.1.1) の8種である。これらの泳動像から遺伝子座を推定し、遺伝子型を決定した。この遺伝子型から集団ごとの遺伝子頻度, 平均ヘテロ接合度等を算出した。

集団の遺伝的変異の程度を測定するためのより適切な尺度は、平均ヘテロ接合度 (H; average heterozygosity) である (Nei, 1987)。平均ヘテロ接合度 (H) は、平均ヘテロ接合体率あるいは遺伝子多様度 (gene diversity) ともいう。

各遺伝子座におけるヘテロ接合度 (h) は以下の式で定義される。

$$h = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2$$

ここで x_i は、ある遺伝子座における対立遺伝子 i の頻度である。そして、平均ヘテロ接合度 (H) は、全ての遺伝子座の平均値で示される (Nei, 1973)。

集団間の相対的な遺伝的分化の程度を表す指標として、遺伝子分化係数 (G_{ST} ; coefficient of gene

differentiation) があり, 平均ヘテロ接合度 (H) から以下の式により求めることができる (Nei, 1973)。

$$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$$

ここで, H_S は, 集団ごとに求めた平均ヘテロ接合度の平均値 (集団内の遺伝子多様度) を, H_T は, 集団全体の平均ヘテロ接合度 (全集団の遺伝子多様度) を示す。この遺伝子分化係数 (G_{ST}) は, 0 から 1 まで変化し, 0 に近いほど集団間の分化の程度が低いことを示す。

上式は, 様々な階層構造にも分割することができ, 繰り返して適用することができる (Nei, 1987)。

集団全体のヘテロ接合度を以下のとおり分割した。

$$H_T = H_S + D_{SR} + D_{RT}$$

ここで, H_S : 林分内多様度, D_{SR} : 地域内林分間差, D_{RT} : 地域間差である。

地域間の遺伝子分化の程度 (G_{RT}) は, 以下の式で求められる。

$$G_{RT} = D_{RT} / H_T$$

また, 地域内の林分間の遺伝的分化の程度 (G_{SR}) は, 以下の式で求められる。

$$G_{SR} = D_{SR} / H_T$$

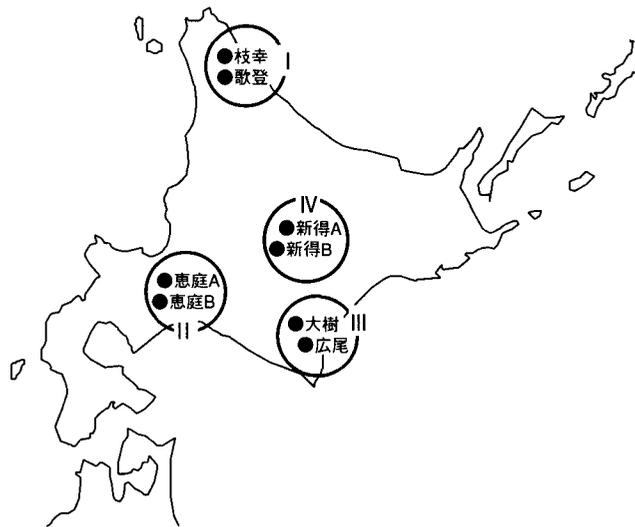


図4-4-1 調査対象林分の位置

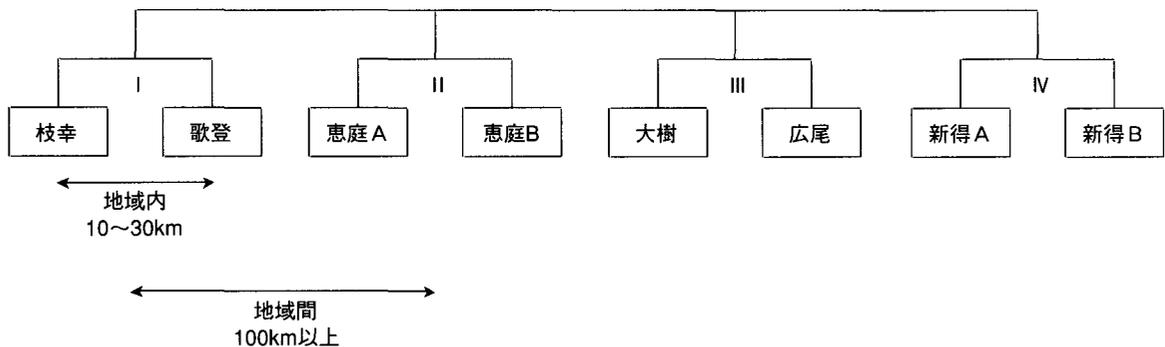


図4-4-2 調査対象林分の階層構造の模式図

Ⅲ. 結果

林分別および全体の遺伝子座ごとの遺伝子頻度を表4-4-1に示す。全体の平均ヘテロ接合度 (H_T) は0.303, 林分間の遺伝子分化の程度 (G_{ST}) は0.015, 地域間の遺伝子分化の程度 (G_{RT}) は0.005, 地域内林分間の遺伝子分化の程度 (G_{SR}) は0.010だった。全変異のうち, 林分間に由来する変異は1.5%であり, 全変異の98.5%が林分内に存在していた。地域間変異は, 全変異のわずか0.5%程度であった。

表4-4-1 林分別, 地域別および全体の遺伝子座ごとの遺伝子頻度

対立 遺伝子座	遺伝子	地域別												全体
		I		II		III		IV		I	II	III	IV	
		音標	歌登	恵庭B	恵庭A	広尾	大樹	新得A	新得B					
Aap	a	0.0146	0.0000	0.0000	0.0090	0.0050	0.0050	0.0000	0.0202	0.0073	0.0045	0.0050	0.0101	0.0067
	b	0.1699	0.2963	0.3129	0.1597	0.2475	0.3515	0.1620	0.4091	0.2331	0.2363	0.2995	0.2855	0.2636
	c	0.7282	0.6204	0.6043	0.6955	0.6683	0.5891	0.7817	0.5354	0.6743	0.6499	0.6287	0.6585	0.6529
	d	0.0874	0.0833	0.0827	0.1358	0.0792	0.0545	0.0563	0.0354	0.0854	0.1093	0.0668	0.0458	0.0768
Lap	a	0.0631	0.0000	0.0072	0.0330	0.0099	0.0000	0.0139	0.0051	0.0316	0.0201	0.0050	0.0095	0.0165
	b	0.0291	0.0182	0.0432	0.0495	0.0495	0.0099	0.0347	0.0051	0.0237	0.0464	0.0297	0.0199	0.0299
	c	0.6893	0.7455	0.7410	0.7553	0.6634	0.7673	0.7500	0.7143	0.7174	0.7481	0.7153	0.7321	0.7283
	d	0.1408	0.1545	0.1727	0.1156	0.2475	0.1485	0.1458	0.1837	0.1477	0.1441	0.1980	0.1648	0.1636
	e	0.0146	0.0727	0.0324	0.0405	0.0198	0.0743	0.0347	0.0867	0.0436	0.0365	0.0470	0.0607	0.0470
	f	0.0631	0.0091	0.0036	0.0060	0.0099	0.0000	0.0208	0.0051	0.0361	0.0048	0.0050	0.0130	0.0147
Mnr	a	0.4227	0.5392	0.5177	0.4819	0.4133	0.4010	0.5391	0.5729	0.4809	0.4998	0.4071	0.5560	0.4860
	b	0.5773	0.4608	0.4823	0.5181	0.5816	0.5990	0.4609	0.4271	0.5191	0.5002	0.5903	0.4440	0.5134
	c	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0051	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0026	0.0000	0.0006
Pgi	a	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0050	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0025	0.0000	0.0006
	b	0.0971	0.1545	0.1439	0.1439	0.1188	0.1089	0.1301	0.1753	0.1258	0.1439	0.1139	0.1527	0.1341
	c	0.7233	0.7182	0.6942	0.6942	0.7772	0.7624	0.6781	0.6907	0.7207	0.6942	0.7698	0.6844	0.7173
	d	0.1796	0.1273	0.1331	0.1331	0.0990	0.0990	0.1781	0.0515	0.1534	0.1331	0.0990	0.1148	0.1251
	e	0.0000	0.0000	0.0108	0.0108	0.0000	0.0297	0.0000	0.0670	0.0000	0.0108	0.0149	0.0335	0.0148
	f	0.0000	0.0000	0.0180	0.0180	0.0000	0.0000	0.0137	0.0155	0.0000	0.0180	0.0000	0.0146	0.0081
Dia	a	0.0000	0.0091	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0050	0.0045	0.0000	0.0000	0.0025	0.0018
	b	0.9951	0.9909	0.9872	1.0000	0.9901	0.9455	1.0000	0.9850	0.9930	0.9936	0.9678	0.9925	0.9867
	c	0.0049	0.0000	0.0128	0.0000	0.0099	0.0545	0.0000	0.0100	0.0024	0.0064	0.0322	0.0050	0.0115
Gr	a	0.0000	0.0000	0.0000	0.0055	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0027	0.0000	0.0000	0.0007
	b	1.0000	1.0000	1.0000	0.9945	0.9752	0.9950	0.9932	1.0000	1.0000	0.9973	0.9851	0.9966	0.9947
	c	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0149	0.0050	0.0068	0.0000	0.0000	0.0000	0.0099	0.0034	0.0033
Mdh	a	0.0291	0.0000	0.0100	0.0043	0.0063	0.0000	0.0068	0.0153	0.0146	0.0071	0.0032	0.0111	0.0090
	b	0.9709	1.0000	0.9900	0.9915	0.9937	0.9752	0.9863	0.9796	0.9854	0.9907	0.9845	0.9829	0.9859
	c	0.0000	0.0000	0.0000	0.0043	0.0000	0.0248	0.0068	0.0051	0.0000	0.0021	0.0124	0.0060	0.0051
Got	a	0.1078	0.0463	0.1208	0.1208	0.0450	0.0297	0.0479	0.1364	0.0771	0.1208	0.0374	0.0922	0.0819
	b	0.6912	0.6204	0.6750	0.6750	0.7050	0.7178	0.7603	0.6263	0.6558	0.6750	0.7114	0.6933	0.6839
	c	0.2010	0.3333	0.2042	0.2042	0.2500	0.2525	0.1918	0.2374	0.2672	0.2042	0.2512	0.2146	0.2343

Ⅳ. 考察

ミズナラは, モンゴリナラ (*Quercus mongolica*) の変種とされているが, 韓国のモンゴリナラの5遺伝子座を用いた報告 (ZS. Kim *et al.*, 1993) によると, 多様度 (H_T) が0.319, 林分間の遺伝子分化の程度 (G_{ST}) は, 0.052である。また, 欧米等のコナラ属樹種の研究例では, H_T が0.058~0.376, G_{ST} が0.01~0.16である (Kremer and Petit, 1993)。用いる遺伝子座の数や種類が異なり, 単純に比較はできないが, 北海道のミズナラは, コナラ属の中で高めの多様度を持つが, 林分間の遺伝的な分化の程度は低めであると考えられる。林分間の遺伝的分化の程度が低い原因としては, 二つ考えられる。一つは, 起源が単一であることであり, もう一つは, 分布の拡大後も遺伝子の交流があったことである。北海道のミズナラを含むコナラ属は, 氷河期の厳寒期には, ほとんど姿を消し, 後氷期にあたる約8,000年前頃から急激に分布を拡大したことが報告されている (五十嵐, 1993; 山田, 1998)。単一起源説は, この拡大のもととなった集団が単一であったとする説である。本州のブナも氷河期の終了とともに北上を始めたとされている (Tsukada, 1982)。日本海側のブナ集団が遺伝的に類似しているのは, 単一起源の集団が北上していったことで説明されている (Tomaru *et al.*, 1998)。北海道のミズナラの場合, 以下の理由で単一起源ではないと考えられる。北海道内には, 氷河期の間もコナラ属の小集団 (逃

避地；refugium）が存在した可能性が高いことが花粉分析の結果から報告されている（五十嵐，1997）。また，花粉分析から黒松内地域で約9,000年前から急増し，根室地域では約8,000年前から急増しているとされている（五十嵐，1993）。黒松内と根室の距離は，約450kmあることから，単一の集団が拡大したとすると年あたり約450m東進する必要がある。ブナは，本州では，年あたり62～233m北上し（Tsukada，1982），北海道では，年あたり23m北上した（渡邊，1994）とされている。これらの数値に比べ，ミズナラの450 m/年の値は大きすぎる。

集団間の移住（migration）は，その量がたとえわずかであっても，集団間の遺伝的均一性を保つのに十分である（Maynard Smith，1989）。ミズナラの花粉の直径は20～30 μ でモミ属やトウヒ属，ブナなどの花粉に比べて小型であり（中村，1980），遠方まで飛散すると考えられる。現在，ミズナラは，北海道内に広く分布していることから花粉による遺伝子の交流（移住）は，比較的容易におこると考えられる。氷河期には，北海道内各地に分断されたミズナラの小集団が存在し，それらは，機械的浮動により異なる遺伝子頻度を持っていたと考えられる。しかし，後氷期になりそれらの小集団が分布を拡大し，分布が重なるようになると花粉による遺伝子の交換が可能となり，遺伝的に均一となっていったと考えられる。

第5節 葉および堅果の形質の地理的変異

I. はじめに

近年の植物における地理的変異の研究において，DNAやアロザイムといった遺伝形質を用いたものが大多数を占めている。これは，技術的な進歩により様々なマーカが開発されてきたことに加えて，これらの形質が環境の影響をほとんど受けないことに起因していると考えられる。環境の影響を受けやすい形質を用いる場合，環境分散と遺伝分散を分離するのが難しく，両者を完全に分離するためには，時間と労力のかかる試験設計が必要となる。ところが，現在用いられているアロザイムやDNAマーカは，選択に対して中立とされており，選択による遺伝的分化の程度を推定することはできない。つまり，主に機会的浮動に起因する変異についての研究であり，選択に起因する変異は解明できない。地理的変異の全貌を明らかにするためには，選択に対する反応性が異なる様々な形質を用いて総合的に判断する必要がある。

本節では，北海道内各地から収集し，つぎ木で保存しているミズナラクローンを材料とし，葉や堅果の諸形質について，広義の遺伝率や狭義の遺伝率の上限値であるクローンの反復率を推定した。次に，各クローンの産地を東西2地域に分割し，反復率が比較的高い形質を用いて地域間差の検討を行い，地理的変異が生じた原因について考察した。

II. 材料と方法

ミズナラ精英樹や形質優良木のクローン保存，および採種園の管理技術の開発を目的としたミズナラ実験交配園が林木育種センター北海道育種場内（北海道江別市）に設定されている。ここには，北海道内各地から選抜され，つぎ木増殖されたミズナラ62クローンが各12～14個体（ラメート）づつ単木混交植栽されている。この交配園に植栽されているつぎ木クローンを材料とし，以下の形質について分析した。

1 葉の形質

1996年9月に地域性を考慮して30クローンを選び，それぞれのクローンの各3個体からランダムに正常葉を

10枚採取した。調査対象クローンの産地を図4-5-1に示す。試料採取にあたっては、樹冠の表面で春に伸長したシュート先端部分に輪生状に着生している葉を対象とし、秋伸びしたシュートの葉は、形態が不安定であるため対象外とした。

これらの計900枚の葉について、葉身長、葉身幅、葉柄長、側脈角度および葉先から最大葉身幅を示す位置までの長さをデジタイザで測定し（図4-5-2）、葉の片側にある鋸歯まで達している側脈数を数えた。測定終了後、葉を送風乾燥機で完全に乾燥させ、絶乾重を測定した。また、ランダムに選んだ30枚の葉の面積をプランメータで測定し、葉身長×葉身幅と葉面積との相関を調べた。測定結果から、葉身長、葉身幅、葉柄長、葉柄比（葉柄長／（葉柄長+葉身長））、葉面積、形状比（葉身長／葉身幅）、葉身長比（葉先から最大幅の位置までの長さ／葉身長）、側脈角度、側脈数、側脈密度（側脈数／葉身長）および葉面積比（SLA、葉面積／葉の絶乾重）の11形質について、クローンを主因子、個体を副因子とした巣ごもり実験による分散分析を行った。なお、葉身長×葉身幅と葉面積との相関が非常に高かった（相関係数、0.994）ため、葉面積は、葉身長×葉身幅の値から回帰式（ $y = 0.5234x - 0.772$ ）による推定値を用いた。

各形質ごとに全分散を誤差分散（特異的環境分散：special environmental variance）、クローン内個体間分散（一般的環境分散：general environmental variance）およびクローン間分散（遺伝子型分散：genetic variance）の3つに分割し、反復率を求めた（Falconer, 1989）。求め方は以下の通りである（明石, 1978）。

分散分析で、クローン間の平均平方の期待成分は、 $\sigma^2 + n\sigma p^2 + n p k S^2$ 、クローン内個体間の期待成分は、 $\sigma^2 + n\sigma p^2$ 、誤差の期待成分は、 σ^2 で表される。このとき、 σ^2 ：誤差分散、 σp^2 ：個体単位の分散、 $k S^2$ ：クローン効果、 n ：クローン当たりの個体数、 p ：個体当たりの試料数である。反復率は、全分散に対するクローン効果の比であり、以下の式で表される。

$$\text{反復率} = k S^2 / (\sigma^2 + \sigma p^2 + k S^2)$$

対象の30クローンを元の産地により日高山脈、大雪山地および北見山地で東西に二分した（図4-5-1）。東部地域産12クローン、西部地域産18クローンについて、11形質の地域ごとの平均値を算出し、 t -検定により比較した。



図4-5-1 葉の調査対象クローンの産地および地域区分

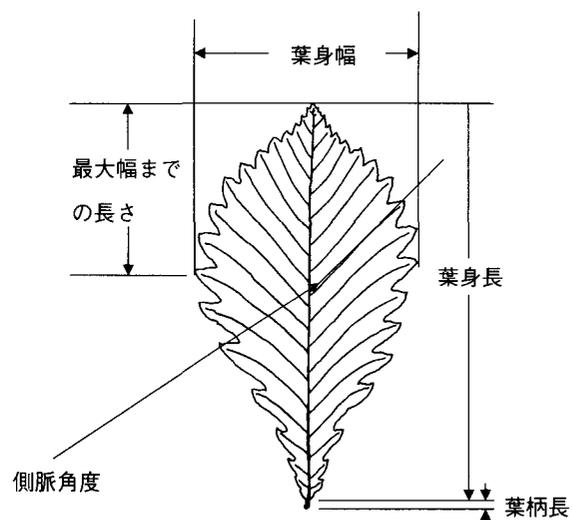


図4-5-2 葉の測定部位

2 堅果の形質

当ミズナラ実験交配園は、1993年から堅果を生産し始めた。1993年から1998年までの6年間、各年の9月下旬に個体ごとに成熟堅果を全部採取し、正常に発達したと考えられる堅果の重量、長径および短径を最高10個まで測定した。この6年間で62クローンのうち54クローンで成熟堅果が生産された。

堅果重と堅果形状比（長径／短径）について、クローンを主因子とし、個体を副因子とする分散分析を生産年次毎に行ない、反復率を求めた。反復率の求め方は、葉形質と基本的に同じであるが、年次により供試クローン数が異なることや年次内のクローン毎の個体数および個体当たりの供試堅果数が異なるため、年次毎に以下の n_1 、 n_2 、 n_3 を計算した（明石、1978）。

分散分析で、供試クローン数や個体数が異なる時、クローン間の平均平方の期待成分は $\sigma^2 + n_2 \sigma p^2 + n_1 k S^2$ 、クローン内個体間の期待成分は $\sigma^2 + n_3 \sigma p^2$ 、誤差の期待成分は σ^2 で表される。このとき、 σ^2 ：誤差分散、 σp^2 ：個体単位の分散、 $k S^2$ ：クローン効果、 p ：供試クローン数、 s_i ： i クローンの個体数、 m_{ij} ： i クローンの j 個体の供試堅果数である。このとき、

$$n_1 = \{1 / (p-1)\} (\sum m_{ij} - (\sum m_i^2 / \sum m_{ij})), n_2 = \{1 / (p-1)\} (\sum (m_{ij}^2 / m_i) - (\sum m_{ij}^2 / \sum m_{ij})), n_3 = \{1 / (\sum s_i - p)\} (\sum m_{ij} - \sum (m_{ij}^2 / m_i)), \text{となり、反復率は、}$$

反復率 = $k S^2 / (\sigma^2 + \sigma p^2 + k S^2)$ で求められる。

また、両堅果形質の年次間の変動を明らかにするため、アンバランスなデータについて分散分析を行う計算機プログラム (LSAB02VB) を用いて、年次毎のクローン平均値をデータとして、クローンと年次を要因とした分散分析を行った。なお、このプログラムは、林木育種センター九州育種場の栗延により開発され、林木育種センターの宮浦 (1998) により Visual Basic に移植されたものである。

葉形質と同様に、各クローンを選定産地で東西 2 地域に二分し、両形質の東西地域の平均値を算出し、 t -検定により比較した。

Ⅲ. 結果

1. 葉の形質の反復率と地理的変異

葉の11形質におけるクローン平均値の代表値（最大値、最小値および平均値）、標準偏差、変動係数（標準偏差／平均値）、分散分析の結果および反復率を表4-5-1に示す。巣ごもり実験の分散分析によると、今回調査した全11形質において、クローン間に1%水準で有意差が検出された。反復率は、葉面積の0.075から形状比の0.279までの範囲となった。分散分析により求められた全分散を、クローン間分散、クローン内個体間分散および誤差分散の3成分に分割した結果を図4-5-3に示す。

東西両地域の平均値を t -検定により比較したところ、11形質のうち、形状比、側脈数および葉身長では1%水準で、葉身長比では5%水準で有意差が検出された。この4形質における東西両地域の平均値および標準偏差を図4-5-4に示す。他の7形質では、有意差が検出されなかった。反復率が比較的高く、かつ地域間差がみられた側脈数と形状比（ともにクローン平均値）との関係を図4-5-5に示す。東部地域産のクローンは、西部地域産に比べ形状比が小さく、側脈数が少ない傾向がみられた。

表4-5-1 葉の各形質のクローン平均値における代表値，分散分析の結果および反復率

	形状比	葉柄長 (mm)	葉柄比	側脈数 (本)	側脈角度 (°)	葉身長比	葉面積比 (cm ² /g)	側脈密度 (本/cm)	側脈密度 (mm)	側脈密度 (mm)	側脈密度 (cm ²)
最大値	2.816	7.4	0.048	15.8	46.9	0.570	86.61	1.314	152.3	62.6	47.98
最小値	2.031	3.0	0.024	10.6	34.8	0.422	56.83	0.799	104.3	42.3	25.05
平均値	2.44	4.60	0.03	13.52	39.75	0.50	71.78	1.06	129.68	53.87	36.65
標準偏差	0.207	0.869	0.005	1.112	3.211	0.032	7.606	0.106	11.660	5.312	6.260
変動係数	0.085	0.189	0.148	0.082	0.081	0.064	0.106	0.100	0.090	0.099	0.171
分散分析の結果 (クローンの平均平方/誤差の平均平方)											
F 値	30.126	17.929	12.005	23.767	15.461	16.292	13.374	19.604	18.277	14.586	13.821
有意差	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
反復率	0.279	0.242	0.228	0.197	0.175	0.121	0.120	0.110	0.106	0.091	0.075

分散分析の結果，**は1%水準でクローン間に有意差が認められたことを示す。

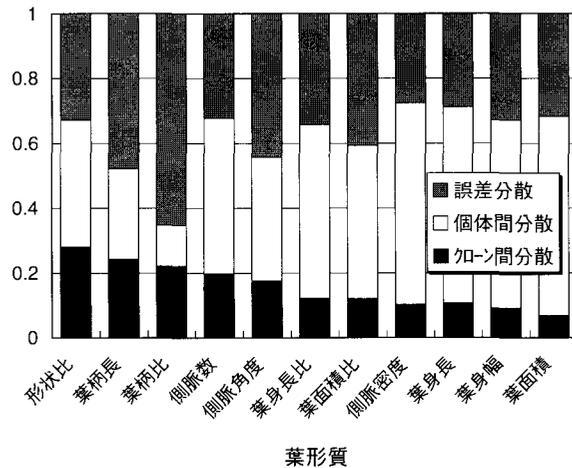


図4-5-3 葉の11形質における全分散の構成

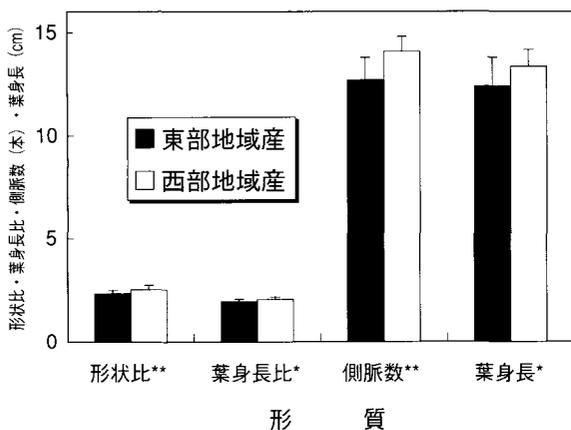


図4-5-4 東西地域間で有意差のみられた葉の4形質の平均値の比較

t-検定の結果，**は1%水準で，*は5%水準で有意差があることを示す。
エラーバーは，標準偏差を示す。

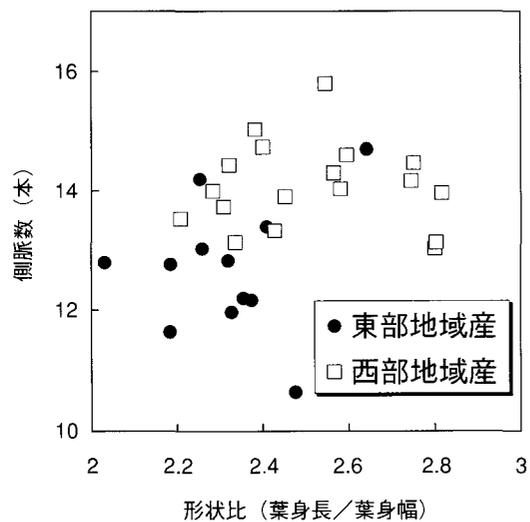


図4-5-5 クローン平均値による葉の形状比と側脈数との関係

2. 堅果の形質の地理的変異

年次ごとに成熟堅果の着生がみられたクローン数と個体数、測定堅果数および堅果形状比、堅果重の分散分析の結果を表4-5-2に示す。分散分析により求められた全分散をクローン間分散、クローン内個体間分散および誤差分散の3成分に分割した結果を図4-5-6に示す。年により着果傾向が異なるために、年次間でクローン数、クローン内個体数、個体内測定堅果数が異なっている。堅果形状比は、全ての生産年でクローン間に1%水準で有意差が検出された。しかし、堅果重については、1993年と1995年は5%水準で、1994年と1996年は1%水準で有意差が検出されたが、1997年と1998年は有意差が検出されなかった。両形質の反復率は、年次間変動があるものの、堅果形状比では平均0.451、堅果重では平均0.162だった。また、各年次の堅果形状比と堅果重のクローン平均値について、クローンと年次を要因とした分散分析の結果を表4-5-3に示す。両形質において、クローン間および年次間に1%水準で有意差が検出された。両形質の全分散をクローン間分散、年次間分散および誤差分散に分割して図4-5-7に示す。堅果形状比は、堅果重に比べ年次間分散が非常に小さく、誤差分散も小さい結果が得られた。

表4-5-2 各年次の堅果が着生したクローン数、個体数、測定堅果数および堅果形状比と堅果重の分散分析の結果

生産年次	1993	1994	1995	1996	1997	1998
堅果を着生したクローン数	21	22	8	24	17	10
堅果を着生した個体数	70	80	30	86	55	31
測定堅果数	269	393	178	523	321	140
堅果形状比						
F 値	5.012	11.206	6.457	5.932	3.208	9.167
有意差	**	**	**	**	**	**
堅果重						
F 値	1.906	2.415	3.350	2.372	0.711	1.909
有意差	*	**	*	**	n.s.	n.s.

分散分析の結果、**は1%水準で、*は5%水準で有意差があり、n.s.は有意差がないことを示す。

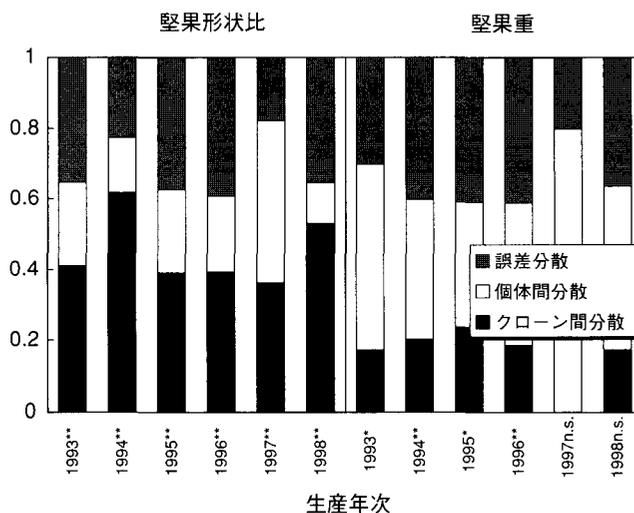


図4-5-6 堅果の形状比および堅果重における分散成分の年次推移

分散分析の結果、**は1%水準で、*は5%水準で有意差があり、n.s.は有意差がないことを示す。

クローンの平均値による堅果重と形状比の関係を図4-5-8に示す。また、両形質の東西両地域の平均値および標準偏差を図4-5-9に示す。t-検定の結果、堅果形状比については東西地域間に1%水準で有意差が検出され、東部地域産のクローンの堅果は、西部地域産に比べ形状比が小さく丸みを帯びていることがわかった。しかし、堅果重では両地域間に有意差が検出されなかった。

表4-5-3 年次とクローンを要因とした堅果形状比と堅果重の分散分析表

要因	自由度	平方和	平均平方	平均平方の期待成分	F 値
(堅果形状比)					
年次	5	0.2206	0.0441	Ve + 32.2 Vy	5.531 **
クローン	53	3.4395	0.0649	Ve + 3.9 Vc	8.134 **
誤差	156	1.2447	0.0080	Ve	
(堅果重)					
年次	5	29.7429	5.9486	Ve + 32.2 Vy	13.291 **
クローン	53	80.6255	1.5212	Ve + 3.9 Vc	3.399 **
誤差	156	69.8203	0.4476	Ve	

分散分析の結果、**は1%水準で有意差があることを示す。
Veは誤差分散、Vcはクローン間分散、Vyは年次間分散を示す。

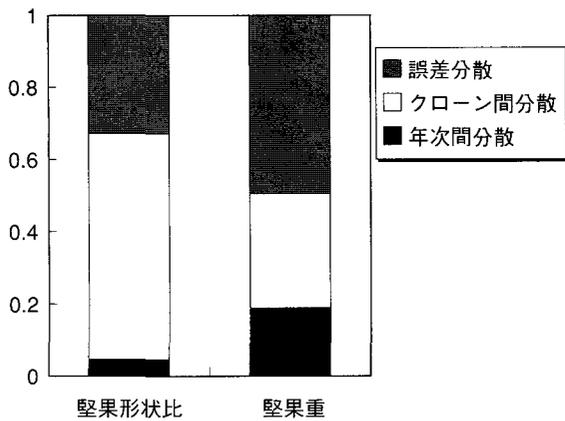


図4-5-7 堅果の2形質における分散成分の構成

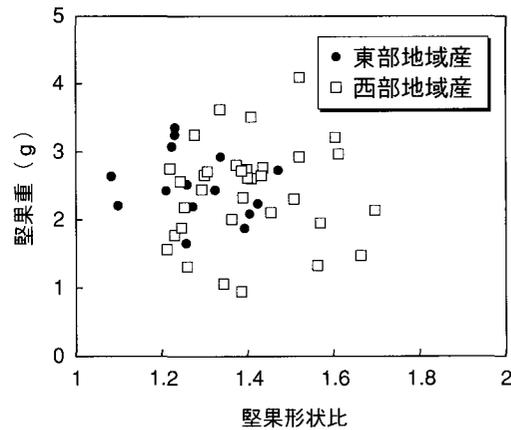


図4-5-8 クローン平均値による堅果重と堅果形状比との関係

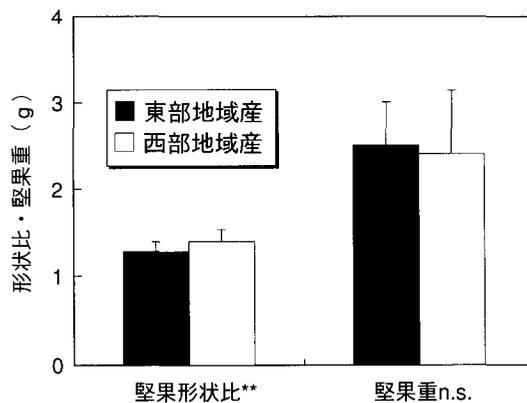


図4-5-9 堅果の2形質の東西地域間差

t-検定の結果、**は1%水準で有意差があり、n.s.は有意差がないことを示す。エラーバーは、標準偏差を示す。

IV. 考 察

今まで北海道のミズナラについて葉の諸形質の反復率が報告されているが、これらの反復率は、個体間の分散成分の全分散に対する比（級内相関）として算出されている（門松，1983；門松・松浦，1983；宮崎ら，1986；織田ら，1991；門松・船越，1992）。この場合、個体間の分散成分は、遺伝子型分散と一般的環境分散の和であり、個体毎の立地条件の差といった環境による分散が含まれているため、本報告で推定されたクローンの反復率に比べ大きく推定されていると考えられる。対象集団や調査方法が異なっているが、これらの報告で測定している葉身長、葉身幅、形状比、葉柄長、葉柄率、側脈数、側脈角（宮崎ら，1986では、側脈角を除く6形質）の反復率の平均値を比較すると、本報告では0.188であるのに対し、前述の5報告では0.336～0.602となり、1.8～3.2倍高い値である。明石（1988）によると、同一の交配集団から任意に抽出されたクローンを対象とした場合のクローンの反復率は、広義の遺伝率に相当するとしている。クローンの反復率は、広義の遺伝率や狭義の遺伝率の上限値であり（Falconer, 1989）、対象形質の遺伝のしやすさや環境の影響の受け難さを判断する指標となると考えられる。今まで様々な樹種でこれらの遺伝パラメータが推定されている。そのうち、カラマツの樹高における家系平均値の反復率が0.700（栗延，1984）、カラマツの容積密度数における狭義の遺伝率が0.61～0.83（大島，1998）、ヒノキの初期成長における狭義の遺伝率が、0.47～0.54（古藤・栗延，1996）、スギの材質形質および胸高直径における広義の遺伝率が0.61～0.86および0.44（藤澤，1998）と推定されている。これらと比較すると、ミズナラの葉の諸形質の遺伝性は低いことが示唆された。

本報告では、各クローンの環境を均一にした試験設計をとったため、葉の形状比と側脈数で東西地域間の明瞭な違いが検出されたと考えられる。生育環境の異なる個体から直接試料を採取し分析する場合、個体間や地域間の変異が環境によるか、遺伝的なものか判断できない。表現形質の遺伝的な変異を明らかにするためには、時間や労力がかかるが、環境効果を分離できる試験設計が有効であることが示唆された。

堅果形状比は堅果重に比べ、6年間を通じて反復率が高く、遺伝性の強い形質であるが、堅果重はクローン内個体間の分散が大きく環境により変動する形質であることが示唆された。堅果重は、それぞれの個体の堅果生産に配分できる資源量や着生堅果数によって変動しうる形質であると考えられる。

葉の形状比、側脈数および堅果の形状比に北海道の東西地域間で有意な差があることがわかった。北海道において、ミズナラの鋸歯数は、経度と負の相関があることが報告されている（門松，1983）が、本報告においても東部地域産のミズナラは、葉の側脈数が少ないという同様の結果が得られた。さらに東部地域産のミズナラは、葉と堅果の形状比が小さいという特徴を持つことが明らかになった。門松（1983）は、葉の諸形質の緯度や経度に対応した変異は、環境条件のストレスに関係した緯度変異もしくは生態変異であるという考え方と、ミズナラと他種との移入交雑によるという考え方を列挙し、アイソザイム分析の結果も併せて前者に起因するのではないかと結論づけている。しかし、本報告で用いた東部地域産のミズナラクローンは近縁種であるカシワに近い形態をしている（橋詰ら，1994）。今までの人工交雑試験等から、ミズナラとカシワは交雑和合性があること（河野ら，1991；第3章第2節）、両種の人工交雑家系は葉や堅果の形態が両親種の間位置し、葉の側脈数や形状比が母樹のミズナラに比べ減少すること（第3章第3節）がわかっている。また、東部地域には、カシワが多く天然分布し（長谷川，1985）、この地域のミズナラは、開葉が遅く（生方ら，1994）、カシワと開花期が近接していると考えられる。材質的にも東部地域のミズナラは「カシワ系」とされ（高橋，1984）、産地が取引価格に影響を与えている。以上のことから、北海道の東部地域では、ミズナラとカシワの自然交雑

が起こっており、このことがカシワに近い形態を持つミズナラが存在する一因となっていると考えられる。

また、北海道においてコナラ属は、氷河期に分布域が縮小・分断化し、後氷期に分布が急激に拡大したことが花粉分析の結果から示されている（五十嵐，1986；山田，1998）。種間交雑と分布の変遷史が現在のミズナラの地理的変異を形成した主要な要因と考える。

第6節 開葉時期の地理的変異

I. はじめに

落葉樹の場合、開葉時期の早遅は、光合成を行うことのできる期間の長短に直接対応している。しかし、北海道は我が国の最北部に位置し、気象条件が厳しく平年の終霜日が5月31日以降となる地域もあり（札幌管区気象台，1964），早く開葉することが必ずしも植物にとって有利とは限らない。実際に1998年には、5月11日に晩霜害が発生し北海道内各地で樹木への被害が発生している（梶・高橋，1999）。本節では、ミズナラの開葉の産地間差を解明し、産地間差が生じた要因を明らかにするために、北海道内各地から収集し同一の試験園に植栽されているミズナラの母樹別家系を用いて、開葉の産地間差の調査、解析を行った。

II. 材料と方法

林木育種センター北海道育種場内（江別市）のコナラ属産地試験園のうち、立地条件の似た2つの試験園に植栽されている北海道内産のミズナラ50産地378系統およびカシワ10産地31系統を用いて以下の解析を行った。調査は、1993年および1994年の5月から6月にかけて、主として同一母樹家系の最も早く開葉の進んでいる芽の状況を数値化し、その系統の開葉指数を求めた。開葉指数は表4-6-1に示すとおりである。

- ① 1993年のミズナラおよびカシワにおける開葉指数の平均値の推移とミズナラの各調査日ごとの標準偏差を図4-6-1に示す。5月20日が最もばらつきが大きく、ミズナラの5月20日のデータについて産地を要因とした1元分類の分散分析を行った。なお、開葉指数の各段階の間隔は、ほぼ等間隔になるように設定したため、この指数によるデータを間隔変数とみなし分散分析に使用した。この分散分析の結果から産地間の寄与率を算出した。寄与率は、産地間の平方和から自由度分の誤差分散を差し引いた値（産地間の純平方和）に対する全平方和の割合である（明石，1988）。また、最小有意差（LSD）により産地の平均開葉指数が全体の平均に比べ有意に早いもの、有意に遅いものを地図上にプロットした。
- ② 指数1に達した日をその系統の開葉日とし、4月1日からの積算日数で表した。これを産地ごとに平均した値をその産地の平均開葉日として以下の解析に用いた。なお、指数1に達した積算日数の平均がその産地の開葉状態を示す指標として妥当かどうかを検討するため、1994年に系統内の半数の個体が指数1となる日を4月1日からの積算日数で記録した。この積算日数と指数1に達した積算日数との産地ごとの平均値の関係を図4-6-2に示す。両者間に著しく高い相関が認められ（相関係数0.961； $p < 0.001$ ），指数1に達した積算日数の平均を産地の平均開葉日として用いた。年次による開葉の変動を明らかにするため、各年ごとに平均開葉日が高い産地から順に順位をつけ、年次間の順位相関係数を求めた。また、産地ごとに両年の開葉日までの積算温度を比較した。
- ③ 開葉の地域間差を明らかにするため、全産地を東西2地域の分割し、両地域の平均開葉日を t -検定により比較した。地域区分は前節の図4-5-1のとおりである。

- ④ ミズナラについて産地試験園での開葉日と各系統の原産地の気象との関係を明らかにするため、調査地に最も近い江別市内（江別市西野幌）の気象観測地点のデータ（札幌管区气象台，1993）から、全ての産地について1993年および1994年における試験園での開葉日までの積算温度を求めた。また、原産地での1966年から1975年の10年間の5月の平均気温（農林省・気象庁，1978）と試験園での開葉日までの積算温度とを比較した。開葉までの積算温度（ T_S ）は、日平均気温が5℃を超えた日の平均気温から5℃を引き、1月1日から開葉日まで積算したもの（倉橋，1996）である。また、ブナにおいて降霜と開葉の関係が指摘されている（二田・黒田，1995；梶・高橋，1999）ことから、ミズナラについて原産地の1966年から1975年の最終降霜日（農林省・気象庁，1978）と試験園での開葉日との関係を調査した。なお、近郊に観測地点が存在しない原産地は、解析から除外した。
- ⑤ 種間交雑がミズナラの開葉時期に及ぼす影響を明らかにするため、近接した試験園の交配家系（ミズナラ×ミズナラ，ミズナラ×カシワ）およびその交配母樹のミズナラについて，1993年に，開葉状況を調査した。

表4-6-1 開葉指数

段階	開葉の状態
1	芽鱗が緩み緑色の部分が露出する
2	芽鱗の先端から葉先がでる
3	葉先がほぐれる
4	葉先が分離する
5	葉身がそりかえる
6	葉身が開く
7	個体内の半分以上の芽が6の状態になる
8	系統内の半分以上の個体が7の状態になる

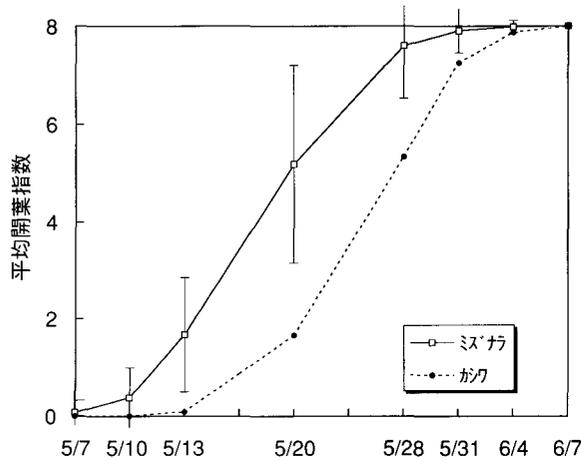


図4-6-1 ミズナラおよびカシワの平均開葉指数の推移
ミズナラのエラーバーは、標準偏差を示す。

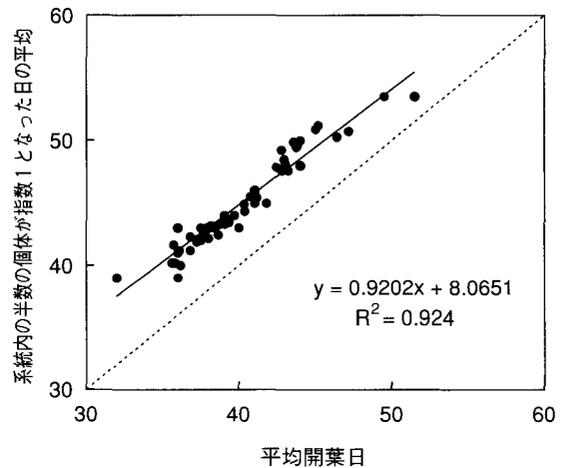


図4-6-2 系統内の半数の個体が指数1となった日と平均開葉日との関係（1994）

Ⅲ. 結果

最も早く開葉が観察された日は1993年が5月7日，1994年が5月2日で，最も遅く開葉が観察された日は，それぞれ5月28日，5月23日だった。両年とも22日の差がみられた。1993年および1994年における産地別の平

均開葉日までの積算温度の関係を図4-6-3に示す。両者間に著しく有意な相関関係が認められた（相関係数0.926； $p < 0.001$ ）。開葉までの積算温度の産地平均値は、1993年は41.3～152.5℃，1994年は33.4～134.3℃であり，両年とも3.6～4倍程度の差がみられた。各系統における開葉までの積算温度の両年の平均値と差の関係を図4-6-4に示す。全体的に開葉までの積算温度は，1993年より1994年が低かったが，東部地域産の一部に，高い産地があった。東部地域産は西部地域産に比べ，開葉までの積算温度が大きく，両年の積算温度の差が小さい傾向がみられた。両年間の開葉順位の関係を図4-6-5に示す。この関係においても両者間に著しく有意な相関関係が認められた（順位相関係数0.879； $p < 0.001$ ）。

1993年5月20日時点での開葉指数に対する分散分析の結果は表4-6-2のとおりである。産地間に有意差が認められた（ F -検定； $p < 0.01$ ）。産地の寄与率が65%程度と産地に由来する変動が大きいことがわかった。図4-6-6に，最少有意差（LSD）により産地の平均開葉指数が全体の平均値に比べ有意に早い産地および有意に遅い産地の分布を示す。その結果，地域的な偏りがみられ，開葉が遅い産地は天塩川以北の日本海側，オホーツク海沿岸，道東東部，十勝内陸で，早い産地は道南，道央から道北の内陸部に分布していた。

ミズナラおよびカシワの東西両地域の平均開葉日を図4-6-7に示す。ミズナラでは，東部地域産は西部地域産に比べ有意に開葉が遅い結果が得られた（ t -検定； $p < 0.05$ ）が，カシワでは，両者間に有意差は認められなかった（ t -検定； $p > 0.05$ ）。

ミズナラの原因地の5月の平均気温と開葉までの積算温度との関係を図4-6-8に示す。両年とも両者間に有意な負の相関が認められた（1993年：相関係数 -0.452； $p < 0.01$ ，1994年：相関係数 -0.410， $p < 0.05$ ）。5月の平均気温が低い産地系統ほど試験園での開葉日が遅い傾向がみられた。

ミズナラの原因地の最終降霜日と平均開葉日との関係を図4-6-9に示す。両者間に1993年は有意な相関が認められなかった（相関係数0.268； $p > 0.05$ ）が，1994年は有意な正の相関が認められた（相関係数0.310； $p < 0.05$ ）。

ミズナラ×カシワ交雑家系，ミズナラの種内交配家系およびミズナラ母樹の開葉指数の推移を図4-6-10に示す。ミズナラ×カシワ交雑家系は，ミズナラ母樹やミズナラの種内交配家系に比べ，開葉の進行が遅かった。

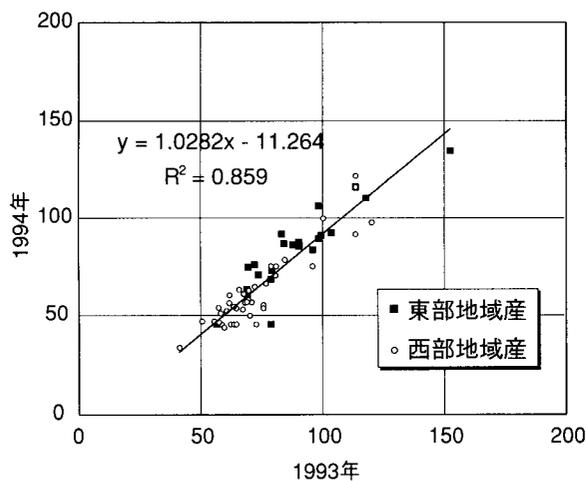


図4-6-3 産地平均による開葉までの積算気温の比較

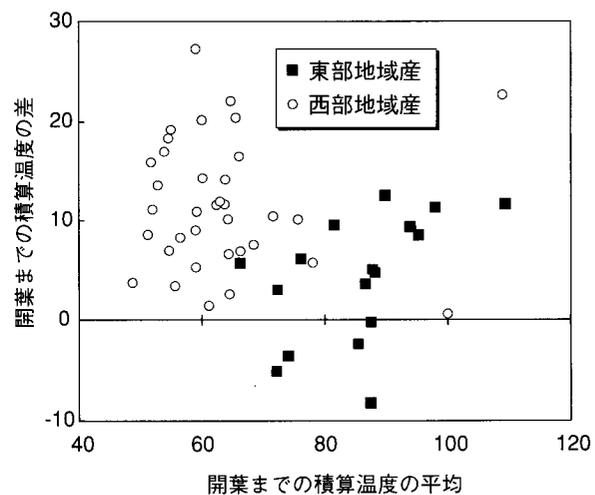


図4-6-4 各産地集団における開葉までの積算温度の平均値と差との関係（1993年と1994年）

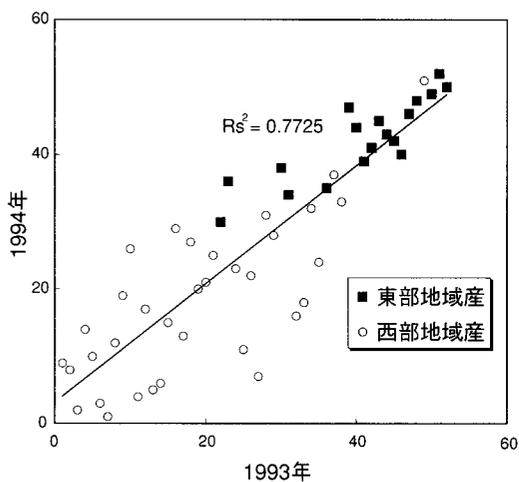


図4-6-5 1993年と1994年の開葉順位の関係

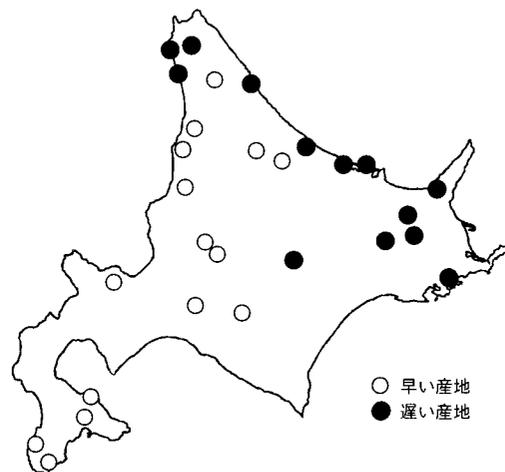


図4-6-6 開葉が平均より有意に早い産地および遅い産地の分布

表4-6-2 1993年5月20日時点での開葉指数の分散分析表

要因	自由度	平方和	平均平方	F 値
産地間	49	1088.79	22.22	15.88 **
誤差	329	460.38	1.4	
全体	377	1549.16		

注) **は、1%水準で有意差が認められたことを示す。

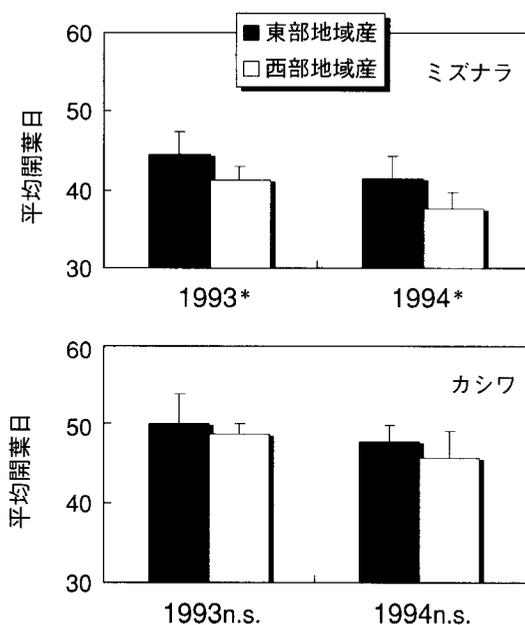


図4-6-7 1993年および1994年の地域別の平均開葉日の比較

t-検定の結果、*は、5%水準で東部地域産及び西部地域産に有意差があり、n.s.はないことを示す。

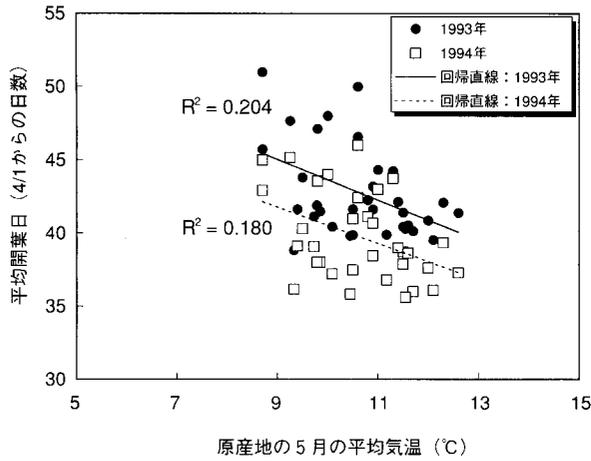


図4-6-8 原産地の5月の平均気温と試験園での平均開葉日との関係

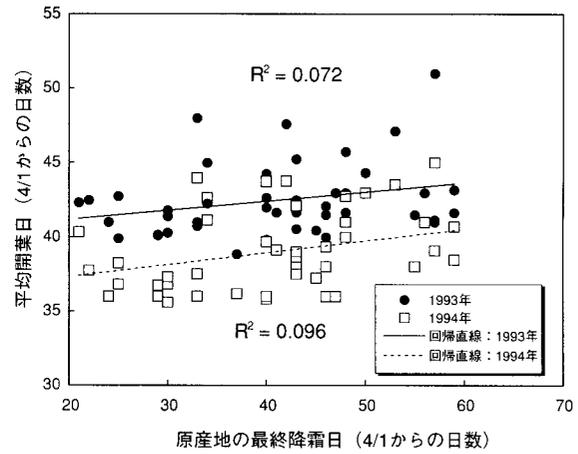


図4-6-9 原産地の最終降霜日と試験園での開葉日との関係

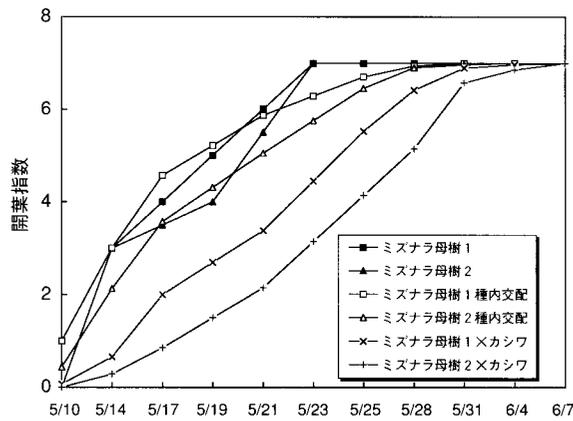


図4-6-10 ミズナラ×カシワ交雑家系、ミズナラ種内交配家系およびそれらのミズナラ母樹の開葉指数の推移

IV. 考 察

試験園近郊の西野幌における1993年の4月と5月の平均気温は、それぞれ4.2℃、10.0℃（札幌管区気象台，1993）であり，1994年には，それぞれ5.0℃，11.3℃（札幌管区気象台，1994）であった。両年における日平均気温と積算温度の推移を図4-6-11に示す。4，5月の気温が高い1994年に全体的に開葉が早まっていることから，ミズナラの開葉に気温が大きく影響していることが示唆された。ブナにおいて，開芽初日までの積算温度は，年による変動が大きいが報告されている（倉橋，1996）。図4-6-11によると1994年は，1993年に比べ気温の高い4，5月だったが，東部地域産の5系統を除き，開葉までの積算温度は，1994年が1993年より低くなっていた。春の気温の高い年は低い年に比べ，ミズナラの開葉までの積算温度が低い結果が得られた。選定地域別に，両年間の開葉日までの積算温度を比較すると，西部地域産のミズナラは1993年に比べ1994年は平均11.5℃低かったが，東部地域産のミズナラは平均6.7℃の低下であった。東西地域間で春の気温の変化に対する反応性に違いがあることが示唆された。2年間の開葉日の順位相関において，特に開葉日の遅い東部地域の産地の順位

変動が小さいことは、遅く開葉する産地は、温度変化の影響を受けにくいことを示唆している。北海道の東部地域は、早春の寒暖の差が大きく晩霜害が発生しやすい地域であると推察される。このような地域で、暖かな春の気温に反応し開葉時期を早めると晩霜害を受ける危険性が増すと考えられる。東部地域産ミズナラは、開葉が遅く温度変化に対する反応が鈍いことがわかったが、これは、地域の気候に適応した特性と考えられる。

開葉時期の地理的な変異の大きな傾向としては、北海道の東部および最北部に開葉が遅い産地が分布している。東部地域産が西部地域産に比べ開葉が遅いことは、アカエゾマツ（岡田，1975）やトドマツ（栄花，1981）でも報告されている。これらの北海道に広く天然分布する樹種において共通の傾向がみられたことは、気候等共通の要因によってこれらの樹種の地域変異が生じたことを示唆している。原産地の5月の平均気温と試験園での平均開葉日とに正の相関が認められたが、同様の傾向は、ヨーロッパに広く分布する *Quercus petraea* でも報告されている（Ducouso et al, 1996；Kremer et al, 1997）。しかし、北米のアカナラ（*Quercus rubra*）やほとんどの樹種では、逆の傾向を示すといわれている（Kremer et al, 1997）。我が国のブナにおいても、様々な試験地で高緯度産の開芽が低緯度産に比べ早いことが報告されている（橋詰，1994；橋詰ら，1996；梶，1994；梶，1996；梶・西谷，1996；倉橋・芝野，1994；倉橋，1996；梶・高橋，1999；中田・中山，1994；中田・中山，1995）。Kremer et al (1997) は、*Quercus petraea* でみられた傾向について、寒さや暖かさに対する適応や捕食者に対する適応の影響を受けた結果であると考察している。北海道のミズナラの場合、原産地の最終降霜日と試験園での平均開葉日との関係は明瞭でなかったが、ミズナラはブナ等に比べ平均的に開葉が遅く（二田・黒田，1995）、通常では、晩霜害の危険があまり大きくないためと考えられる。しかし前述のように、東部地域産のミズナラは、希に訪れる暖かな春とその後の急激な気温の低下により引き起こされる大規模な霜害に適応していると思われる。

北部、東部の海岸線には、開葉の遅い産地が分布している。北海道では一般に海岸線にはカシワが分布し、独特の風衝の樹形をしている（長谷川，1984）。ところが、天塩川以北の日本海側からオホーツク海沿岸にかけてはミズナラが同様の樹形で分布している（長谷川，1984；清水，1993）。この地域のミズナラは形態や伸長様式において他のミズナラと異なることが報告されている（斉藤，1980；清水1993）。また、以前からこの地域に

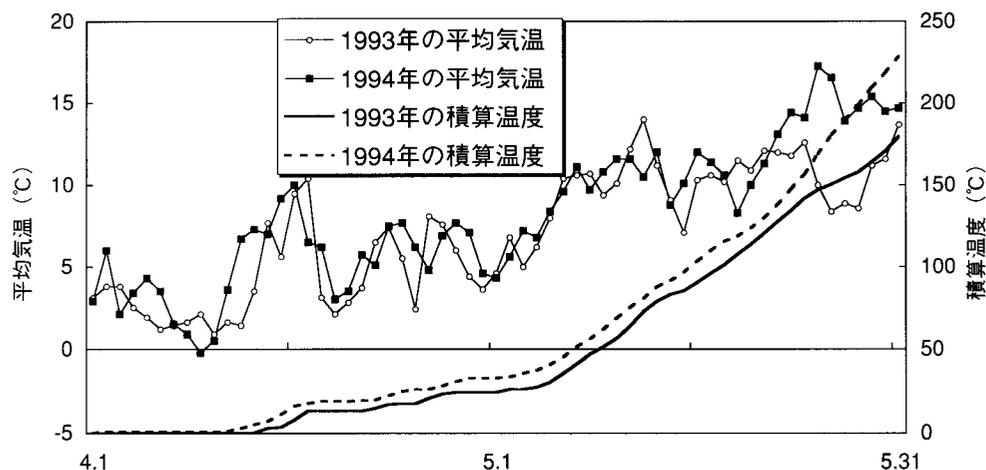


図4-6-11 日平均気温と積算温度の推移（4月,5月）

分布するナラ類は、モンゴリナラやミズナラとカシワの自然雑種の可能性が指摘されている（宮崎，1988；斉藤，1980）。カシワは、ミズナラに比べ耐塩性が高いと考えられ海岸地域に適した樹種といえる。図4-6-1のとおり、カシワの開葉はミズナラよりも遅い。さらに、ミズナラとカシワの人工交雑家系は、ミズナラ母樹やミズナラ種内交配家系に比べ開葉が遅くなることがわかった（図4-6-10）。また、東部地域のミズナラとカシワの開葉日の差は、西部地域のそれに比べ小さく（図4-6-7）、雌雄花の開花時期も同様に近接し、自然交配が起こる頻度も高いことが推察される。以上から、東部地域産のミズナラの開葉が遅い原因に、カシワとの自然交雑が関与している可能性も考えられる。

後氷期に北海道においてミズナラが分布を拡大する際、気象条件の厳しい海岸線や東部地域では、開葉時期が遅いという特徴を持つカシワとの自然雑種が選択されていったと考える。

第5章 総合考察

1. ミズナラの繁殖特性

千歳市近郊のミズナラ天然林の4年にわたる調査によると、ミズナラ天然林では毎年ほぼ半数の個体が大量に雄花を着生し、集団全体の年次変動は、堅果生産量に比べ小さいことが示された。しかし、個体別の雄花生産の年次変動は大きく、大量に雄花を着生させる個体は年次により入れ替わり、4年間で全体の75%以上の個体が一度は雄花を大量に着生させることがわかった。また、雄花着生の優良な個体の周囲は、不良な個体の周囲に比べ、他個体の本数が少なく、その胸高断面積合計も小さいこと、アカエゾマツ等の針葉樹が少ないことがわかり、雄花の着生に個体周囲の環境が大きな影響を与えていることが示された。周囲に他個体が少なく、光や養分をめぐる競争の激しくない環境下のミズナラは、毎年多くの雄花を着生させ、逆に、周囲に他個体の多いミズナラは、毎年ほとんど雄花を着けない。その中間の環境にある8割以上のミズナラは、年により雄花着生量を変動させ、林分全体としては、毎年ほぼ一定の個体が雄花を大量に着生させていることが示唆された。このことから、林分全体としての花粉プールは、毎年、量的にはほぼ一定であるが、その構成は、変動すると考えられる。ミズナラの堅果生産は、年次変動が大きいことが報告されているが、変動の原因のひとつとして「風媒花説（または、受粉効率説）」があげられている。これは、効率的に受粉や種子生産を行うために、集団内の個体の着花を同調させるという仮説である。ミズナラの雌花生産量と堅果生産量の相関が低いこと、雄花量は、集団全体では変動が小さいことから、ミズナラにおいてはこの仮説に、適合しないことがわかった。

北海道内各地から選抜された個体をつぎ木によりクローン化し、単木混交植栽したミズナラ交配園において、6年間にわたり堅果生産量の調査を行った結果、生産量の年次変動パターンは、クローンにより異なり、その同調性が低いことがわかった。同調性が認められた組合せ数は、北海道の東西それぞれの地域内組合せが多く、地域間組合せは少なかったことから、地域や産地ごとに気候条件等に対する着果反応が異なることが示唆された。また、6年間の総生産堅果数にクローン間差が認められたことから、着果性に対する遺伝的な寄与が高いと考えられた。雌花数と生産される堅果数との相関は低く、花の数から堅果数を予測できないが、開花1ヵ月半後の7月中旬の幼堅果数と生産堅果数の相関は高く、この時点での予測が可能なが示唆された。

近交係数を異にする組合せの人工交配試験の結果から、ミズナラは近親交配では、近縁でない個体間の交配に比べ、堅果の平均重量、発芽率および当年生苗の苗高が大きく低下することがわかった。また、近親交配で

は、形態異常苗が出現する頻度が高く、ミズナラは他樹種に比べ強い近交弱勢を持つことが示唆された。このことから、ミズナラは、他集団とは遺伝子の交流がなく、近縁な個体のみ的小集団となったとき、遺伝的に健全な次世代が生産されず、集団が消滅する危険性があると考えられる。

2. ミズナラ天然林の遺伝的構造

アロザイム遺伝子とMoran's Iを用いてミズナラ天然林の林冠を構成する上木集団の遺伝的構造を解析したところ、集中分布している遺伝子のあることがわかり、遺伝的なパッチ構造を持つことが示された。共通の遺伝子を保有する個体間の近縁度は、高いと考えられることから、パッチ構造は、遺伝的に近縁な個体によるものと推察される。距離の近い個体間は、遠い個体間に比べ交配の機会が高いと考えられ、近縁な個体が集中分布していれば、ランダム分布に比べ近親交配は、起こりやすいはずである。しかし、同一林内にある稚樹集団は、遺伝子頻度と遺伝子型頻度がハーディ・ワインベルグ比と差がなく、近親交配の証拠はなかった。この原因として、ミズナラは受粉時には近親交配の頻度が高いものの、強い近交弱勢を持つため近親交配由来の受精胚や個体の適応度が低く、選択的に死亡するため、稚樹段階では任意交配によって成立した集団のような遺伝子型頻度となることが考えられる。実際に第1章でミズナラにおいて強い近交弱勢の存在が示されている。ミズナラは、自家不和合性を有すると考えられることから(河野ら, 1991)、天然集団内で実際に起こりやすい近親交配は、完全兄弟間および半兄弟間の交配であろう。この両タイプの交配により次世代に強い近交弱勢が現れ、選択的に死亡するために、天然林内の稚樹集団の近交係数が低下し、遺伝的な健全性が保たれていると考えられる。近年、ゲノムDNAのマイクロサテライト領域を用いた樹木天然集団の交配実態の研究において、遠距離由来の花粉が高い率で交配に関与していることが指摘されている(Dow and Ashley, 1996)が、遠距離の個体間では、近距離の個体間に比べ血縁関係が低い確率が高く、受精率や交配した次世代の生存率が相対的に高くなるためにこのような結果を生じると考えられる。発芽定着後は移動できず、種子散布距離が制限される植物集団において、高い花粉散布能力と強い近交弱勢は、多くの個体との交配の機会を増加させ、集団内の遺伝的な多様性を維持する役割を果たしていると考えられる。

頻度の低い遺伝子を保有する上木と稚樹の位置を比較したところ、親個体と推定される個体の比較的近距离(30m程度以内)にのみ相同遺伝子を保有する稚樹が存在することがわかった。この林分には、カケスやアカネズミが生息していることが確認されている。カケスは、林分外まで堅果を運搬貯蔵すると考えられ、相同遺伝子を保有する稚樹の分布は、主にアカネズミによる種子の散布範囲を示していると考えられる。

北海道内各地のミズナラ天然林9林分について、アロザイム遺伝子とMoran's Iによる解析の結果、全ての林分で遺伝的なパッチ構造が検出され、推定されたパッチの大きさは、直径が18~46m程度であった。パッチの大きさは、林分の平均胸高直径と正の相関が認められ、胸高直径の大きい林分ほど大きい遺伝的なパッチをもつことがわかった。平均胸高直径が大きい林分は、個体サイズの標準偏差が大きく、数世代の個体が混在していると考えられた。これに対し、平均胸高直径の小さい林分は、個体サイズが正規分布に近い一山型の分布をしていることから、多くても2世代程度と考えられた。以上から、平均胸高直径の小さい林分は、比較的大規模な攪乱により一斉に更新したものであり、平均胸高直径の大きい林分は、このような一斉更新した集団が、比較的小規模な攪乱により部分的に何度か更新を繰り返したためにこのようなサイズ分布をとるようになったと考えられる。繰り返される攪乱と更新により、遺伝的なパッチサイズも大きくなったと考えられる。

3. ミズナラの種間交雑

我が国におけるコナラ属の種間交雑は、ミズナラ×カシワ、ミズナラ×コナラ、コナラ×ミズナラ、コナラ×カシワで雑種が創出されている(河野ら, 1991)。今回、カシワ×ミズナラでも種間雑種が創出されたことから、ミズナラとカシワは、相互に交雑和合性を持つことが明らかとなった。北海道においてミズナラは、平地から山地まで、ほぼ全域にわたって分布している。カシワも海岸沿いを中心に分布域が広く、ミズナラの分布域とも重なっている。これに対してコナラは、日高地方を中心に十勝地方や道南部の一部に分布が限定されている(清水, 1998)。よって、北海道においてミズナラの自然交雑を考える場合、カシワとの交雑がより重要と考えられる。

ミズナラ×カシワ種間雑種個体は、堅果や雄花の生産および堅果や花粉の発芽率において、同齡のミズナラの種内交配個体と比較して遜色のない値を示すことがわかった。また、この種間雑種個体は、ミズナラおよびカシワとの戻し交雑が可能であり、開花時期も両種と重なることから、両種間で浸透交雑が起こる可能性が示唆された。

ミズナラ×カシワ種間交雑個体は、葉や堅果の殻斗の形態、各部の毛の着生状況が両親種の間からややミズナラ寄りに位置することがわかった。また、走査型電子顕微鏡による花粉表面形態の観察では、表面の突起の形状が両親種の間接的な形態を示していた。これらの葉や殻斗の形態を指標に、天然林のミズナラ個体の形態を分析したところ、天然林の中には、ミズナラに近い個体からカシワに近い個体まで連続的に分布することが示された。このことから、天然林内では、ミズナラとカシワの自然交雑が起こっていることが示唆された。北海道内には、ミズナラとカシワの形態を様々な程度で併せ持つ個体の存在が広く知られている。これらは両種の種間雑種およびそれらと両親種との戻し交雑個体である可能性の高いことが示された。

4. 北海道におけるミズナラの地理的変異

北海道におけるミズナラの地理的変異は、北海道を日高山脈、大雪山地および北見山地で大きく東西に二分し、この地域間の変異について解析を行った。

PCR-RFLP法によりミズナラの葉緑体DNAに2つのタイプが検出された。これを用いて産地別のミズナラを分析した結果、2つのタイプの頻度が産地間で大きく異なることがわかった。分布図を作成すると、頻度の低いタイプは、主に西部地域に分布し、東部地域では1産地にのみ分布していた。被子植物において葉緑体DNAは、母性遺伝するとされていることから、種子散布距離の制約から分布の偏りが生じたと考えられた。

これに対して、核DNAの一次生産物であるアロザイムの変異は、集団間の遺伝的分化の程度が著しく低く、全変異の約1.5%程度が林分間変異であり、地域間変異はわずか0.5%程度と推定された。核DNAは、両親個体から均等に次世代に受け渡されることから、花粉による移動が可能であり、ミズナラのように分布域が連続している樹種では、連続的な花粉の移動により集団間の遺伝的分化が抑制されていると考えられる。葉緑体DNAとアロザイムにみられた変異パターンの違いは、ミズナラの持つ繁殖特性のうち、堅果の散布距離と花粉の飛散距離の大きな違いに起因すると考えられる。

ミズナラの葉や堅果の形態における地理的変異の解析は、比較的多く報告されている。しかし、ほとんどの報告が自生している現地からの直接標本を解析しているため、産地間の環境分散と遺伝分散を分離できず、得られた変異が環境によるものか、または遺伝的なものかを判断することができなかった。本論文では、北海道

内各地から選抜した個体を、つぎ木によりクローン化し、同一試験地に単木混交植栽することにより、葉や堅果の諸形質の反復率を推定することが可能となった。これによると、葉の諸形質の反復率は、0.075~0.279となり、既往の報告より低い値となった。比較的反復率の高い葉の形状比および側脈数を用いて東西地域間の違いを解析したところ、東部地域産のクローンは、西部地域産に比べ、形状比が小さく側脈数が少ないことがわかった。また、堅果の形状比は、堅果重に比べ、個体（ラメート）間や年次間の変動が小さく、遺伝性の高い形質と考えられた。この堅果の形状比において、東部地域産のクローンは西部地域産に比べ小さいことがわかった。

開葉時期は、生育場所の気候に適応した形質であると考えられる。春先にいち早く開葉するのが適応的であるか、遅霜等の危険を回避するために遅く開葉するのが適応的であるかは、その個体が生育している地域の気象条件により変わってくる。環境条件がほぼ均一な試験園で開葉調査をすることにより、同一の気象条件に対する開葉の反応の遺伝的な違いのみを調べることができる。開葉時期においても、東西地域間で明瞭な違いが検出された。東部地域産は、西部地域産に比べ開葉が遅く、気温の高い春でも、開葉までの積算気温の低下が小さいことがわかった。これは、平年は春の気温が低く、希な春先の高温後の急激な気温の低下による霜害の危険性がある北海道東部地域に適応した特性であると考えられる。カシワはミズナラよりも開葉が遅く、ミズナラ×カシワの人工交配家系もミズナラに比べ開葉が遅くなることがわかった。

葉や堅果の形質および開葉時期をまとめて比較すると、いずれの形質においても東部地域産のミズナラは、西部地域産に比べカシワに近い。カシワは、海岸地域を中心に十勝地方では内陸まで広く分布している。第3章でミズナラとカシワは交雑和合性のあることが確認されていること、第4章の葉緑体DNAタイプが東部地域の各産地の両種間で差がなかったこと等を総合的に考えると、北海道の東部地域では、ミズナラとカシワの自然交雑や両親種への戻し交雑が起こっていると推察される。

また、葉緑体DNA多型の分布パターンから、西部地域には東部地域にはほとんどないタイプが全域にわたり分布していることがわかった。このタイプの起源は現在までの結果からは、明らかにすることはできないが、次の4つの可能性が考えられる。

- 1) 本州産のミズナラが起源である。
- 2) サハリンや沿海州のミズナラもしくはモンゴリナラが起源である。
- 3) 同一地域に分布するコナラが起源である。
- 4) この地域のミズナラがもともと保有していたものである。

今後、周辺地域の調査が進めば、より確かな推定が可能となるであろう。

氷河期の間、寒暖の変動とともに分布の縮小、拡大を繰り返していた北海道のミズナラは、その最寒冷期においても完全に消滅することがなかったという（五十嵐，1991）。後氷期となり、逃避地に生育していたミズナラは、急激に分布が拡大したが、東西地域間に日高山脈、大雪山地および北見山地が存在し、花粉の交流は多少あったものの堅果の交流が制限されたためにこのようなDNA多型の分布パターンとなったと考えられる。ただし、北見山地は他に比べ標高が低いために両地域間で堅果による移動があったと考えられる証拠がある。滝上町上札久留は、北見山地の東側であるが、この産地のミズナラは、東部地域で唯一、葉緑体DNAの低頻度タイプ（Bタイプ）を持つことがわかっている。ここと西部地域を隔てているのは、標高310mの札久留峠と標高300mの天北峠であり、他に比べ極端に低い（図5-1）ことから、カケス等による堅果の移動が十分可能と考えられる。

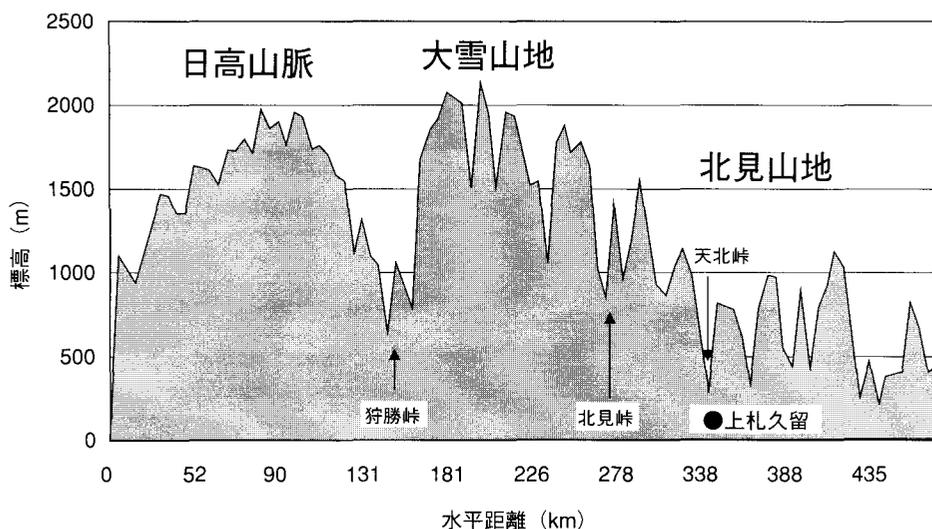


図5-1 北海道脊梁山系の標高推移

5. 北海道におけるミズナラの遺伝資源保存に対する提言

北海道におけるミズナラを対象とした林木遺伝資源保存林は、全体で17箇所であり、東西地域に分けると、東部地域が10箇所、西部地域が7箇所であり、ほぼ均衡がとれていると考えられる。しかし、北海道森林管理局函館分局管内は、2箇所と少ない。ブナは、ミズナラと最も生育立地の競合する種とされている（渡邊，1994）が、この地域は、ミズナラの適地にブナが分布し、国有林ではナラ類の資源量が特に少ない（北海道水産林務部，1998）。花粉分析の結果によると（五十嵐，1991），この地域では、後氷期にまずコナラ属を主とした森林が成立し、その後ブナが主体となる森林になったことが推察される。このような分布の変遷をした地域は、北海道では他になく、遺伝的に異なる特性を持つことが考えられる。また、ミズナラの北海道と本州との遺伝的なつながりを考える上でも貴重な地域といえる。北海道最北部の稚咲内周辺のミズナラは、開葉が極端に遅く、開葉の年次変動も小さかった。第4章第6節の図4-6-4および図4-6-5において、西部地域産の他産地と分布が極端に離れているものがこの稚咲内産のミズナラである。この近郊には、モンゴリナラを対象樹種とした遺伝資源保存林が1箇所指定されているが、ミズナラとモンゴリナラの関係进行を明らかにする上でもこの地域に新たに遺伝資源保存林を設定する必要があると考える。最後に東西両地域を分割する山系は北上するに従い標高が低くなる。前述したように、この地域では、東西両地域間の遺伝的交流が起こっていることが推定される。北海道のミズナラの遺伝的変異を明らかにする上でもこの地域に遺伝資源保存林を設定することが望まれる。

6. ミズナラにおける遺伝育種的な天然林施業技術の確立に向けた提言

北海道の森林・林業は天然林が中心であるが、天然林資源の減少、質的な劣化が問題となっている現在、この天然林の資源回復に向けた施業技術の確立が急務となっている。天然林は、様々な生物の集合体であり、繁殖という行為を通して次世代を生産している。天然林内のそれぞれの個体は、現在の自分自身の価値だけでなく、次世代に遺伝的に関与するという価値を併せ持つ。天然林を、次世代を生産する繁殖集団として取り扱い、

目的とする次世代を残していくための施業法が遺伝育種的な天然林施業である。この施業は、天然林を永続的に取り扱っていくため、以下のような基本的な考えに沿って進めていく必要があると考えられる。

- 1) 森林生態系の持つ潜在的な力を活用し、同一地域で完結する施業である。
- 2) 林分の遺伝的な健全性を保ちつつ、目標とする遺伝的特性に誘導していく施業である。
- 3) 現在の林分だけでなく、次世代以降の遺伝的特性を考慮した施業である。
- 4) 低コスト、省力化を目指す施業である。

この施業法の流れを図5-2に示す。この施業法は、大きく ①現在の林分の遺伝的特性や次世代を残す潜在能力を評価する技術、②評価した林分を、目的とする遺伝的特性を持つ林分に誘導する技術に分けられる。評価には、現在の林分が持つ遺伝的特性の他に次世代を残すのに十分な個体数があるか、十分な雌雄花の着生量があるかといった次世代への貢献度も含まれる。目的とする遺伝的特性は、遺伝的な多様性の保全を中心とした林分や高品質木材の供給可能な林分など、その林分の置かれた位置や、施業者の意図により様々なものが想定できる。

このような遺伝育種的な天然林施業技術を確立するためには、以下のような研究・技術開発が必要である。

① 林分の遺伝的構造の解明

林分内に何世代が共存するか、家系がまとまって存在するか、など林分内の垂直的および水平的な遺伝的構造を明らかにする。

② 林分内の交配・繁殖システムの解明

林分内でどのような交配が行われているか、全体の何割の個体が交配に関与しているか、また、どのような繁殖様式をとるかなどを明らかにする。

③ 各種形質の遺伝性の解明

有用な形質（幹の通直性や真円性、耐病性等）やその他の多くの形質の遺伝性を明らかにし、林分のもつ遺伝的変異の大きさ、幅を明らかにする。

④ 地理的な遺伝的変異の解明

各種形質の地理的変異から地域区分を行い、種苗の移動可能な範囲を明らかにする。

本論文では、ミズナラの上記4つの課題に関して以下のことが明らかとなった。

- ① ミズナラ天然林は、遺伝的なパッチ構造を持ち、各林分のパッチの大きさは、平均胸高直径と相関がある。
- ② ミズナラ天然林では、個体が入れ替わりながら、毎年約半数の個体が雄花を大量に着生させている。雄花の着生と周囲の環境とに密接な関係がある。堅果生産量に遺伝的な違いがある。ミズナラは、強い近交弱勢を持つ。
- ③ 日高山脈、大雪山地および北見山地で分割した北海道の東西地域間で、様々な形質に違いがある。

以上のことから、遺伝育種的な天然林施業技術の確立に対して以下の提言を行う。

天然林内には、遺伝的なパッチ構造があることから、その大きさを考慮して保残個体を選定する必要がある。形質が特に優れているからといって、林分内のある特定の部分にある個体群のみを残すと、近交弱勢等により遺伝的に劣化した次世代になる危険性がある。遺伝的な多様性を次世代に伝えるためには、多くの家系を残す必要があり、その林分の推定されるパッチサイズを考慮し、なるべく均等な距離間隔で保残個体を選定することが必要である。

雄花の着生は周囲の環境と密接な関係があり、遺伝的に多様な次世代を生産させるためには、堅果の豊凶にあわせて、ミズナラの周囲の光環境を改善し雄花着生を促進させる必要がある。

堅果や苗の広域にわたる移動、特に東西間の移動は、避ける必要がある。

今後、ミズナラについて、様々な表現形質の遺伝性を明らかにし、優良形質個体の選択的な伐採や保残が次世代の遺伝的特性にどのように影響するか解明する必要がある。さらに、花粉の有効飛散距離を明らかにし、繁殖集団の大きさを推定する必要がある。また遺伝資源保存や、天然林施業は、この繁殖集団を単位として行うことが最も効率的であり、かつ効果的であると考える。

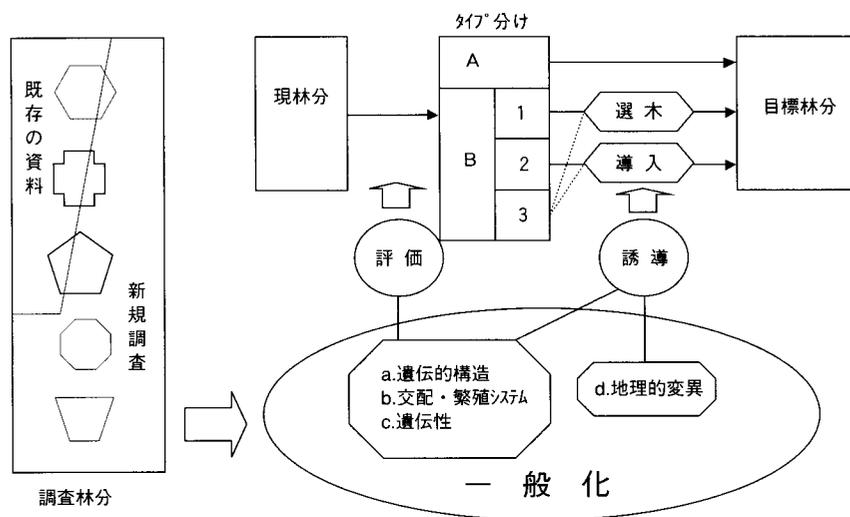


図5-2 遺伝育種的な天然林施業法の流れ図

林分のタイプ分け

- A：遺伝育種的な施業法を用いる必要のない林分
- B：遺伝育種的な施業法が必要な林分
 - B 1：既存の遺伝子で改良可能な林分
 - B 2：他から遺伝子群の導入が必要な林分
 - B 3：既存の遺伝子の改良および他からの導入の両方が必要な林分

摘要

本研究は、ミズナラの繁殖特性、近縁種であるカシワとの雑種性、林分の遺伝的構造および北海道における地理的変異の調査から、北海道においてミズナラの保有する種内変異を解析し、その変異の成因を明らかにすることを目的とした。さらに、これらの生態遺伝学的な解析結果をもとに、遺伝・育種的な立場から、ミズナラの遺伝資源としての保存方策および天然林施業技術の確立に向けた提言を行うことを目的とした。

1. ミズナラ天然林では毎年ほぼ半数の個体が大量に雄花を着生し、集団全体の年次変動は、堅果生産量に比べ小さいことが示唆された。しかし、個体別の雄花生産の年次変動は大きく、大量に雄花を着生させる個体は年次により入れ替わり、4年間で全体の75%以上の個体が一度は雄花を大量に着生させることがわかった。

また、雄花着生の優良な個体の周囲は、不良な個体の周囲に比べ、他個体の本数が少なく、胸高断面積合計も小さいこと、アカエゾマツ等の針葉樹が少ないことがわかり、雄花の着生に個体周囲の環境が大きな影響を与えていることが示された。

2. ミズナラ交配園の堅果生産量の年次変動パターンは、クローン間の同調性が低いことがわかった。同調性が認められた組合せ数は、北海道の東西それぞれの地域内から選定されたクローン間の組合せが多く、地域を異にする組合せは少なかったことから、気候条件等に対する着果の反応において地域的な分化が起きていることが示唆された。また、6年間の総生産堅果数にクローン間差が認められたことから、着果性において遺伝的な寄与が高いと考えられた。雌花数と生産される堅果数との相関は低く、花の数から堅果数を予測できないが、開花1ヶ月半後の7月中旬の幼堅果数と生産堅果数の相関は高く、この時点での予測が可能ながことが示唆された。
3. 人工交配試験から、ミズナラは近親交配において、堅果の平均重量、発芽率および当年生苗の苗高が大きく低下することがわかった。また、近親交配では、形態異常苗が出現する頻度が高くミズナラは、他樹種に比べ強い近交弱勢を持つことが示唆された。
4. アロザイム遺伝子とMoran's Iを用いてミズナラ天然林の林冠を構成する上木集団の遺伝的構造を解析したところ、近縁な個体からなるパッチ構造を持つことが示された。頻度の低い遺伝子を保有する上木と稚樹の位置を比較したところ、親個体と推定される個体の比較的近距离（30m程度以内）にのみ相同の遺伝子を保有する稚樹が存在した。これは、アカエゾミ等による堅果の散布が原因と考えられた。
5. 北海道内各地のミズナラ天然林9林分について、アロザイム遺伝子とMoran's Iによる解析において、全ての林分で遺伝的なパッチ構造が検出され、推定されるパッチの大きさは、直径が18m~46m程度であった。パッチの大きさは、林分の平均胸高直径と正の相関が認められ、胸高直径の大きい林分ほど大きい遺伝的なパッチをもつことがわかった。比較的大規模な攪乱による一斉更新とその後の小規模な攪乱による部分的な更新が、林分の個体サイズ分布やを遺伝的なパッチサイズを規定していると考えられた。
6. 人工交配によりミズナラとカシワの交雑和合性の確認およびミズナラ×カシワ人工交雑個体の稔性や形態的特性の調査、解析を行った。カシワを雌性親、ミズナラを花粉親とした交配で堅果が生産されたことから、ミズナラとカシワは、相互に交雑和合性を持つことが明らかとなった。ミズナラ×カシワ種間雑種個体は、堅果や雄花の生産および堅果や花粉の発芽率において、同齡のミズナラの種内交配個体と比較して遜色のない値を示すことがわかった。また、この種間雑種個体は、ミズナラおよびカシワとの戻し交雑が可能であり、開花時期も両種と重なることから、両種間で浸透交雑が起こる可能性が示唆された。ミズナラ×カシワ種間交雑個体は、葉や堅果の殻斗の形態、各部の毛の着生状況が両親種の間からややミズナラ寄りに位置することがわかった。走査型電子顕微鏡による花粉表面形態の観察により種間雑種個体は、両親種の間的な形態を示すことがわかった。葉や殻斗の形態を指標に、天然林のミズナラ個体の形態を分析したところ、天然林産個体は、ミズナラに近い形質を持つ個体からカシワに近い形質を持つ個体まで存在し、天然林内でミズナラとカシワの自然交雑が起こっていることが示唆された。
7. ミズナラの葉緑体DNA、アロザイム、葉や堅果の形態および開葉時期という形質を用いて、北海道を日高山脈、大雪山地および北見山地で大きく東西に二分し、この地域間の変異についての調査、解析を行った。葉や堅果の形態および開葉時期において東西地域間に大きな違いが認められ、東部地域産のミズナラは、西

部地域産に比べカシワの形質に近いことが示された。東部地域では、ミズナラとカシワの自然交雑や両親種への戻し交雑が起こっていることが推察された。葉緑体DNA多型においては、西部地域には東部地域にはほとんど分布しないタイプが全域にわたり分布していることがわかった。氷河期の間、逃避地に生育していたミズナラは、後氷期に急激に分布が拡大したが、東西地域間に日高山脈、大雪山地および北見山地が存在し、花粉の交流はあったものの堅果の交流が制限されたためにこのようなDNA多型の分布パターンとなったと考えられる。

8. 以上からミズナラの遺伝資源に対して以下の提言を行う。北海道におけるミズナラを対象とした林木遺伝資源保存林は全体で17箇所、東部地域が10箇所、西部地域が7箇所であり、ほぼ均衡がとれていると考えられる。しかし、北海道森林管理局函館分局管内は、2箇所と少ない。この地域は、ミズナラとブナが競合する地域であり、北海道と本州との遺伝的なつながりを考える上でも貴重な地域といえ、特に渡島支庁内に新たな遺伝資源保存林の設定が望まれる。北海道最北部の稚内周辺部のミズナラは、開葉が極端に遅く、開葉の年次変動も小さかった。この近郊には、モンゴリナラを対象樹種とした遺伝資源保存林が1箇所指定されているが、ミズナラとモンゴリナラの関係性を明らかにする上でもこの地域に新たに遺伝資源保存林を設定する必要があると考えられる。また、東西両地域を分割する山系は北上するに従い標高が低くなる。この地域では、東西両地域間の遺伝的な交流が起こっていることが推定されるため、北海道のミズナラの遺伝的変異を明らかにする上でもこの地域に遺伝資源保存林を設定し諸調査を進めることが望まれる。
9. 遺伝育種的な天然林施業技術の確立に対して以下の提言を行う。天然林内には、遺伝的なパッチ構造があることから、その大きさを考慮して保残個体を選定する必要がある。形質が特に優れているからといって、林分内のある特定の部分にある個体群のみを残すと、近交弱勢等により遺伝的に劣化した次世代になる危険性がある。遺伝的な多様性を次世代に伝えるためには、多くの家系を残す必要があり、その林分の推定されるパッチサイズに考慮し、なるべく均等な距離間隔で保残個体を選定することが必要である。雄花の着生は周囲の環境と密接な関係があり、遺伝的に多様な次世代を生産させるためには、堅果の豊凶にあわせて、ミズナラの周囲の光環境を改善し雄花着生を促進させる必要がある。堅果や苗の広域にわたる移動、特に東西間の移動は、避ける必要がある。

謝 辞

本論文をとりまとめるにあたり、終始ご指導とご助言をいただいた林木育種センター北海道育種場の河野耕蔵育種課長（現JICA日中協力林木育種科学技術センター計画長期派遣専門家）に厚くお礼申し上げます。

九州大学名誉教授故斉藤 明博士からは本論文に懇篤なるご指導とご助言をいただき、校閲の労を賜りました。ここに深謝の意を表します。九州大学農学部教授白石 進博士からは終始懇切丁寧なご指導とご助言をいただき、ご校閲の労を賜りました。心からお礼申し上げます。また、九州大学農学部教授今田盛生博士には論文のご校閲とご助言を賜り、深くお礼申し上げます。

研究の遂行にあたって終始ご指導と励ましをいただいた、林木育種センター育種部長田島正啓博士ならびに同遺伝資源部長宮田増男博士に心から感謝いたします。本研究の遂行と本論文のとりまとめに際し、林木育種センター北海道育種場の鹿島春美場長（現JICA長期派遣専門家リーダー）、JICAインドネシア林木育種計画長

期派遣専門家の丹藤 修リーダー（現林木育種センター保存評価課長）、北海道育種場の板鼻直栄育種研究室長（現林木育種センター育種工学課長）には、平素から懇切なご教示とご理解をいただき厚く感謝いたします。前林木育種センター育種部長の栄花 茂博士、元林業試験場北海道支場の向出弘正遺伝育種研究室長には、北海道の天然林研究に関する様々な問題に対して懇切なるご教示をいただき心から感謝いたします。

本論文のとりまとめに際し、森林総合研究所東北支所の杉田久志博士には、懇切なるご助言をいただきました。林木育種センター九州育種場育種課長の栗延 晋博士（現JICAインドネシア林木育種計画長期派遣専門家リーダー）には、林木の近交弱勢についてご教示いただきました。林木育種センター東北育種場の高橋 誠研究官（現林木育種センター育種課）には、空間的自己相関分析用のプログラムの使用を快諾していただき、詳細な使用方法をご教示いただきました。林木育種センターの星 比呂志博士（現北海道育種場育種研究室長）には、電子顕微鏡用の試料作成について懇切なるご教示をいただきました。林木育種センターの宮浦富保博士（現龍谷大学理工学部教授）には、分散分析プログラムの使用方法をご教示いただきました。以上の方々に心から感謝いたします。

林木育種センター北海道育種場育種研究室の飯塚和也主任研究官（現宇都宮大学農学部助教授）および織部 雄一朗研究官（現関西育種場育種研究室長）、林木育種センターの久保田正裕主任研究官（現成長形質研究室長）および林 英司研究官には、平素から研究遂行上の様々な問題に対して適切なお助言をいただきました。また、林木育種センター北海道育種場の職員の方々には、材料の養成、試験地の調査および資料の整理にお世話いただいたのみならず、激励とご理解をいただきました。これらの各位のほか、ご協力をいただいた関係森林管理局署の方々にお礼を申し上げます。

最後に、林学研究へ導いていただいた、元宮城教育大学教授高橋宏明博士には、言葉に尽くせないご恩をいただきました。心から感謝いたします。

引用文献

- 青井俊樹（1993）エゾヒグマは肉食獣か？。（生態学からみた北海道，東 正剛・阿部 永・辻井達一編，400pp，北海道大学図書刊行会，札幌）．235-241．
- 青木尊重・柿原道喜・矢野虎雄・今田盛生（1964）九州大学北海道演習林におけるミズナラ2次林の林分構成ならびに生長量について，75回日林講：86-89．
- 明石孝輝（1978）次代検定林のデータ処理と交配設計，147pp，林木育種協会，東京．
- 明石孝輝（1988）林木育種における統計処理（2）．林木の育種149：32-36．
- 明石孝輝（1994）第2世代のスギ模型精英樹の選抜効果と近交弱勢．森林総研報368：1-22．
- Andersson, E., Jansson, R. and Lindgren, D. (1974) Some results from second generation crossings involving inbreeding in Norway spruce (*Picea abies*). *Silvae Genetica* 23 : 34-43.
- Argyres, A. Z. and Schmitt, J. (1991) Microgeographic genetic structure of morphological and life history traits in a natural population of *Impatiens capensis*. *Evolution* 45(1) : 178-189.
- 荒井国幸（1979）ミズナラ種子の大小と発芽特性．林木の育種110：25-26．
- Bacilieri, R., Labbe, T. and Kremer, A. (1994) Intraspecific genetic structure in a mixed population of *Quercus*

- petraea (Matt.) Liebl and *Q. robur* L. *Heredity* 73 : 130-141.
- Badenes, M. L. and Parfitt, D.E. (1995) Phylogenetic relationship of cultivated *Prunus* species from an analysis of chloroplast DNA variation. *Theor. Appl. Genet.* 90 : 1035-1041.
- Boyle, T., Liengsiri, C. and Piewluang, C. (1990) Genetic structure of black spruce on two contrasting sites. *Heredity* 65 : 393-399.
- Bucci, G. and Menozzi, P. (1995) Genetic variation of RAPD markers in a *Picea abies* Karst. Population. *Heredity* 75 : 188-197.
- Burger, H. (1921) Über morphologische und biologische Eigenschaften der Stiel- und Traubeneiche und ihre Erziehung im Forestgarten. *Mitt. Schweiz. Centralanstlt Forstl. Versuchswesen* 11 : 306-376.
- Camus, A. (1934-1954) *Les chenes*. Monographie du genre *Quercus*. Edition Paul Le Chevalier, Paris, 3vol. 1314pp.
- Campbell, R.C. (1974) *Statistics for biologists* 2nd Ed. Cambridge University Press. England. (生物系のための統計学入門 (第2版) (1976) 石居進訳, 346pp, 培風館, 東京)
- 茶屋場盛 (1977) アカマツ採種園における自然自殖率の推定. *日林誌*59 : 414-417.
- Cieslar, A. (1923) Untersuchungen über die wirtschaftliche Bedeutung der Herkunft des Saatgutes Der Stieleiche. *Centralbl Ges Forstwes* 49 : 97-149.
- Cottam, W. P., Tucker J. M. and Santamour, F. S. (1982) Oak hybridization at the university of Utah. State Arboretum of Utah Publ no 1, Salt Lake City
- Crow, J. F. (1976) *Genetics notes* (seventh edition) Burgess Publishing Company. Minnesota, U.S.A. (遺伝学概説 (原書第7版). 1978. 木村資生・北川修・太田朋子共訳. 304pp. 培風館. 東京).
- Darley-Hill, S. and Johnson, W. (1981) Acorn dispersal by the blue jay (*Cyanocitta cristata*). *Oecologia*50 : 231-232.
- Daubree, J. B. (1990) Compariason de la structure genetique de chene rouge dans son aire naturelle et dans son aire d' introduction. These d' ingenieur, I' ENITEF, Nogent-sur-Vernission, France, 43pp.
- Demesure, B., N. Sodji and R.J. Petit (1995) A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology* 4 : 129-131.
- Deneke, F. J. (1975) A red oak provenance trial in Kansas. *Trans. Kans. Acad. Sci.* 77 : 195-199.
- Dewey, S. E., and Heywood, J. S. (1988) Spatial genetic structure in a population of *Psychotria nervosa*. I. Distribution of genotypes. *Evolution*42(4) : 834-838.
- Dow, B. D. and Ashley, M. V. (1996) Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Molecular Ecology* 5 : 615-627.
- Ducousso, A., Bennehart, H. and Kremer, A. (1997) Geographic variations of *Quercus rubra* L. in European tests. *Diversity and Adaptation in Oak Species Proceedings* (Edited by Kim C. Steiner) : 58-67.
- Ducousso, A., Guyon, J. P. and Kremer, A. (1996) Latitudinal and altitudinal variation of bud burst in western populations of sessile oak [*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.]. *Ann. Sci. For.* 53 : 775-782.
- Ducousso, A., Michaud, H., and Lumaret, R. (1993) Reproduction and gene flow in the genus *Quercus*. *Ann Sci*

- For 50 Suppl 1 : 91s-106s.
- Dumolin, S., Demesure, B. and Petit, R. (1995) Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor. Appl. Genet.* 91 : 1253-1256.
- 栄花 茂 (1981) トドマツ冬芽の耐凍性と開芽率の地域性. *日林北支論*30 : 172-174.
- Falconer, D. S. (1989) *Introduction to Quantitative Genetics (Third Edition)*. Longman Group. London. (量的遺伝学入門 (原書第 3 版). 田中嘉成・野村哲郎共訳. 1993. 546pp. 蒼樹書房. 東京).
- Fenster, C. B. (1991) Gene flow in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae) II Gene dispersal. *Evolution* 45(2) : 398-409.
- Ferris, C., King, R. A., Vainola, R. and Hewitt, G. M. (1998) Chloroplast DNA recognizes three refugial sources of European oaks and suggests independent eastern and western immigrations to Finland. *Heredity* 80 : 584-593.
- Flint, H. L. (1972) Cold hardiness of twigs of *Quercus rubra* L as a function of geographic origin. *Ecology*53 : 1163-1170.
- 藤井宏一 (1988) 7. 多変量解析 (生物統計学. 米澤勝衛・佐々木義之・今西 茂・藤井宏一, 212pp, 朝倉書店, 東京). 130-162.
- 藤木利之・守田益宗・三好教夫 (1996) 日本産コナラ亜属 (ブナ科コナラ属) の花粉形態. *日本花粉学会誌* 42(2) : 107-116.
- 藤澤義武 (1998) 高度木材利用に適合する品質管理型木材生産への林木育種的対応に関する研究. *林育研報* 15 : 31-107.
- 深澤和三 (1988) 北海道におけるナラ類の理学的性質. *北海道の林木育種*31(2) : 17-21.
- 古越隆信 (1978) スギ採種園の花粉管理に関する基礎的研究. *林試研報*300 : 41-120.
- 古越隆信・栗延 晋・藤澤義武 (1984) 和華松 (クロマツ×*P. massoniana*のF1) の特性と造林適地. *95回日林論* : 295-298.
- 古越隆信・大谷賢二 (1985) スギ, ヒノキ, アカマツにおける近交弱勢の現れ方. *96回日林論* : 273-276.
- Furukoshi, T. and Sasaki, M. (1985) Interspecific hybridization in Pines in the subsection *Sylvestres* Loud. *Bull. For. Tree. Bree. Inst.* 3 : 21-35.
- 二田美穂・黒田吉雄 (1995) ハヶ岳演習林におけるブナ・ミズナラ・カラマツの開葉に与える晩霜害の影響. *筑波大演報*11 : 271-283.
- Futuyma, D. J. (1986) *Evolutionary Biology (2nd ed.)*. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. (進化生物学 (原書第 2 版). 岸祐由二他訳. 1997. 610pp. 蒼樹書房. 東京).
- Gall, W. R. and Taft, K. A. Jr (1973) Variation in height growth and flushing of northern red oak (*Quercus rubra* L.). *Proc. South For. Tree Improv. Conf.* 12 : 190-198.
- Geburek, T. and Tripp-Knowles, P. (1994) Genetic architecture in bur oak, *Quercus macrocarpa* (Fagaceae), inferred by means of spatial autocorrelation analysis. *Pl. Syst. Evol.* 189 : 63-74.
- Goncharenko, G. G., Padutov, V. E. and Silin, A. E. (1993) Allozyme variation in natural populations of Eurasian pines. I. Population structure, genetic variation, and differentiation in *Pinus pumila* (Pall.) Regel from

- Chukotsk and Sakhalin. *Silvae Genet.* 42 : 237-246.
- 後藤 晋・渡辺敦史・池田浩一 (1997) RAPDマーカーによるハゼノキの品種識別. *日林誌*79(4) : 229-233.
- Gottlieb, D. L. (1972) Levels of confidence in the analysis of hybridization in plant. *Ann. Miss. Bot. Garden* 59 : 435-446.
- Gullberg, U. Yazdani, R., Rudin, D. and Ryman, N. (1985) Allozyme variation in scots pine (*Pinus Sylvestris* L.) in Sweden. *Silvae Genet.* 34 : 193-201.
- Guttman, S. I. and Weight, L. A. (1989) Electrophoretic evidence of relationships among *Quercus* (oaks) of eastern North America. *Can. J. Bot.* 67 : 339-351.
- 濱谷稔夫・渡辺定元・梶 幹男・倉橋昭夫・佐々木忠兵衛 (1989) アカエゾマツとエゾマツの天然雑種の形態的並びに生育上の特徴. *東大農学部演習林報告*81 : 53-68.
- Hamrick, J. L. and Godt, J. W. (1989) Allozyme diversity in plant species. In : Brown, H.D., Clegg, M.T., Kahker, A.L. and Weir, B.S. (eds.), *Plant population genetics, breeding and genetic resources.* : 43-63, Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- 長谷川榮 (1994) 北海道における天然生海岸林の保全に関する基礎的研究 - 石狩海岸におけるカシワ林の構造と更新 -. *北大演報*41 : 313-422.
- 長谷川榮 (1985) 十勝地方のカシワ林について. *日林北支講*33 : 185-187.
- 橋詰隼人 (1975) ブナおよびコナラ属樹種の開花, 受粉, 花粉の採集および花粉の発芽について. *鳥取大学農学部研究報告*27 : 94-107.
- 橋詰隼人 (1983) クヌギ, コナラの幼齢木の着花習性. *広葉樹研究* 2 : 49-54.
- 橋詰隼人 (1994a) ブナの開芽期, 葉形および成長の産地間差異. *日本林学会第105回大会研究集会「森林地域における環境モニタリング」報告集* : 7-13.
- 橋詰隼人 (1994b) ナラ類の育種に関する基礎的研究 (I) 開花, 受粉, 花粉の貯蔵および種間交雑について. *平成5年度科学研究費補助金 (一般研究B) 研究成果報告書*, 3-11.
- 橋詰隼人・索 志立・李 延鎬・岡田 滋・山本福壽 (1994) ナラ類の育種に関する基礎研究 (II) - カシワ, コナラおよびミズナラの間中型個体の葉と果実の形質について -. *105回日林論* : 325-328.
- 橋詰隼人・李 延鎬・山本福壽 (1996) ブナの開芽期の産地及び家系による差異. 「森林地域における酸性雨等地球環境モニタリング体制の確立」*科研成果報告書*. : 47-57.
- Hauch, L. A. (1909) Erblichkeit bei Buche und Eiche. *Centralbl. Ges. Forstwes* 35 : 333-348.
- 林 英司・生方正俊・丹藤 修 (1994) アカエゾマツ採種園における球果の着生量及び着生部位. *日林北支論* 42 : 25-27.
- 林田光祐・渡邊敦史・白石 進 (1996) 雑種ハッコウダゴヨウの遺伝的・生態的特性とその形成過程. *107回日林大会講演要旨集* : 315.
- 平吉 功・林 石根 (1961) 三河東南部におけるアイグロマツ集団の分布. *71回日林講* : 220-224.
- 日浦 勉・小山浩正・五十嵐恒夫 (1992) ブナ, ミズナラの種子と実生の形態の地理的変異. *日林北支論*40 : 53-55.
- 北海道営林局 (1980) 天然林における樹群構造と更新の解析 (中間報告). 228pp, 北海道営林局, 札幌.

- 北海道営林局 (1981) 天然林における樹群構造と更新の解析 (第 2 報). 216pp, 北海道営林局, 札幌.
- 北海道営林局 (1983) 天然林における樹群構造と更新の解析 (第 3 報). 183pp, 北海道営林局, 札幌.
- 北海道営林局 (1984) 天然林における樹群構造と更新の解析 (第 4 報). 179pp, 北海道営林局, 札幌.
- 北海道営林局 (1988) 森林施業の手引. 111pp, 北海道営林局, 札幌.
- 北海道営林局 (1995) 天然更新の考え方とその方法. 67pp, 北海道営林局, 札幌.
- 北海道水産林務部 (1998) 平成 9 年度北海道林業統計. 195pp, 北海道水産林務部, 札幌.
- 北方林業会 (1983) 天然林の生態遺伝と管理技術の研究. 340pp, 北方林業会, 札幌.
- 保坂武宜・玉泉幸一郎 (1993) クヌギ・コナラの成長に及ぼす種子重と被陰処理の影響. 日林九支研論集46: 113-114.
- 黄 成就・張 永田・徐 永椿・任 先威・傅 立国・陳 家端・湯 彦承・匡 可任 (1998) 中国植物志第二十二卷. 459pp, 科学出版社, 北京.
- 井出雄二・倉橋昭夫・佐々木忠兵衛・渡邊定元 (1996) エゾマツ針葉形態の地理的変異. 東大農学部演習林報告95: 65-76.
- 五十嵐八枝子 (1986) 北海道の完新世におけるコナラ属の分布. 北方林業38(10): 10-14.
- 五十嵐八枝子 (1991) 氷期の森林を復元する. (北海道の自然史. 小野有五・五十嵐八枝子, 219pp, 北海道大学図書刊行会, 札幌). 131-156.
- 五十嵐八枝子 (1993) 花粉分析からみた北海道の環境変遷史. (生態学からみた北海道. 東 正剛・阿部 永・辻井達一編, 400pp, 北海道大学図書刊行会, 札幌). 3-21.
- 五十嵐八枝子 (1997) 道央・上川盆地における植生変遷史 - とくに極相期における冷温帯広葉樹のrefugiumについての考察. 44回日本生態学会講演要旨集: 47.
- 今田盛生 (1969) ミズナラ単木母樹からの種子散布. 日林北支講17: 61-63.
- Imada, M., Nakai, T., Nakamura, T., Mabuchi, T. and Takahashi, Y. (1990) Acorn dispersal in natural stands of Mizunara (*Quercus mongolica* var. *grosseserrata*) for twenty years. J. Jpn. For. Soc. 72(5): 426-430.
- 石田 清・中村和子・長坂寿俊 (1995) ホオノキの繁殖特性 (II) - アイソザイム分析による近交弱勢の推定 -. 日林北支論43: 128-130.
- 石井正氣・渡並規子 (1996) トドマツ精英樹クローンの着花特性と採種園の密度管理. 北海道の林木育種 39(1): 9-12.
- 石居 進 (1975) 生物統計学入門 - 具体例による解説と演習 -. 290pp, 培風館, 東京.
- 石塚森吉 (1983) 上芦別ミズナラ林における構造と組成の維持機構. (天然林における樹群構造と更新の解析 (第 3 報). 北海道営林局, 183pp, 北海道営林局, 札幌) 63-71.
- 伊藤嘉昭 (1994) 生態学と社会. 185pp, 東海大学出版会, 東京.
- 岩波生物学事典第 4 版 (1996) 2024pp, 岩波書店, 東京.
- 岩波洋造 (1980) 花粉学. 212pp, 講談社, 東京.
- Iwao, S. (1968) A new regression method for analyzing the aggregation pattern of animal populations. Res. Pop. Ecol. 10: 1-20.
- Iwao, S. (1977) Analysis of spatial association between two species based on the interspecies mean crowding.

- Res. Pop. Ecol. 18 : 243-260.
- 門松昌彦 (1983) ミズナラの地域変異に関する研究. 北海道大学農学部演習林報告40(1) : 1-48.
- 門松昌彦 (1988) 北海道におけるナラ類の多胚性堅果. 北海道の林木育種31(1) : 33-35.
- 門松昌彦 (1988) ナラ類の産地系統試験 -北海道大学雨竜地方演習林の場合-. 北海道の林木育種31(2) : 5-7.
- 門松昌彦・松浦 堯 (1983) ミズナラの葉形質の反復率について. 日林北支講32 : 127-129.
- 門松昌彦・船越三朗 (1992) ナラ類の葉・堅果・殻斗にみられた形態形質の年次変異. 103回日林論 : 317-318.
- 梶 幹男 (1994) 秩父演習林における産地の異なるブナの開芽期比較. 日本林学会第105回大会研究集会「森林地域における環境モニタリング」報告集 : 15-18.
- 梶 幹男 (1996) ブナ産地別相互植栽試験地のフェノロジー -1995年の開芽期を中心として-. 「森林地域における酸性雨等地球環境モニタリング体制の確立」科研成果報告書Ⅱ : 26-27.
- 梶 幹男・西谷裕子 (1996) ブナ産地別相互植栽試験地のフェノロジー -東京大学秩父演習林の1992~1995年の結果-. 「森林地域における酸性雨等地球環境モニタリング体制の確立」科研成果報告書Ⅱ : 6-17.
- 梶 幹男・高橋康夫 (1999) 東京大学北海道演習林におけるブナ産地別フェノロジー -1998年の開葉期と晩霜害-. 日林北支論47 : 54-57.
- Kanazawa, Y. (1982) Some analysis of the reproduction process of a *Quercus crispula* Blume population in Nikko I. A record of acorn dispersal and seedling establishment for several years at three natural stands. Jap.J.Ecol. 32 : 325-331.
- 勝木俊雄・井出雄二・倉橋昭夫・鈴木和夫 (1993) アロザイムによるアカエゾマツとエゾマツの天然雑種の同定. 日林誌75(4) : 367-371.
- 河原孝行・村上哲明・瀬戸口浩彰・津村義彦 (1995) 野生植物からのDNA抽出と解析への道. 日本植物分類学会報11(1) : 13-32.
- 河野昭一 (1974) 植物の進化生物学「種の分化と適応, 407pp, 三省堂, 東京.
- Kelly, D. (1994) The evolutionary ecology of mast seeding. Trend. Ecol. Evol. 9 : 465-470.
- Kim, Z. S., Lee, S. W., Hyun, J. O. (1993) Allozyme variation of six native oak species in Korea. Ann. Sci. For. 50(Suppl 1) : 253-261.
- 北村系子・奥泉久人・関剛・新山馨・白石進 (1992) アイソザイムによるブナ・イヌブナ個体群の繁殖様式の検討. 日生態会誌42 : 61-69.
- Kitamura, K., Okuizumi, H., Suzuki, W. and Shiraishi S. (1992) Hardy-Weinberg equilibrium with allozyme loci among natural population of *Carpinus laxiflora* in Ogawa forest reserve, central Japan. J. Jpn. For. Soc. 74(4) : 346-349.
- Kleinschmit, J. (1993) Intraspecific variation of growth and adaptive traits in European oak species. Ann. Sci. For. 50(Suppl. 1) : 166-185.
- Knowles, P., Perry, D. J. and Foster, H. A. (1992) Spatial genetic structure in two tamarack [*Larix laricina* (DU Roi) K. Koch.] populations with differing establishment histories. Evolution46(2) : 572-576.
- Koenig, W. D., Mumme, R. L., Carmen, W. J. and Stanback, M. T. (1994) Acorn production by Oaks in central coastal California : variation within and among years. Ecology75 : 99-109.

- 木幡靖夫・神沼公三郎・小泉 透・秋林幸男 (1980) ミズナラ天然更新に関する考察. 日林北支講29: 54-56.
- 河野耕蔵 (1991) ナラ類の交雑和合性と堅果の発育過程. 林木の育種「特別号」'91: 33-36.
- 河野耕蔵・栄花 茂 (1985) モミ属の種間交雑に関する研究 - トドマツ×ウラジロモミ・シラベの交雑親和性-. 日林北支論34: 139-141.
- 河野耕蔵・栄花 茂 (1988) アカエゾマツの種内及び種間交雑の種子生産能力と苗木の生育. 林木の育種「特別号」'88: 18-22.
- 河野耕蔵・長坂寿俊・織田春紀・栄花茂・久保田権 (1991) ナラ類の種内交配および種間交雑における堅果生産とアイソザイムの遺伝様式. 林育研報 9: 15-36.
- 河野耕蔵・高橋誠 (1994) 隔離分布する天然性カラマツ集団のアイソザイム変異. 日林東北支誌46: 111-112.
- 小見山章・和田一雄・陸 斉 (1991) 志賀高原横湯川流域における落果量の年次変動. 岐阜大農研報56: 165-174.
- 古藤信義・栗延晋 (1996) ヒノキ精英樹交配実生家系の4年生苗木の苗高の組合せ能力の推定. 林木の育種「特別号」'96: 7-9.
- 菊沢喜八郎 (1991) ミズナラ. 光珠内季報85: 23-25.
- 小山浩正 (1995) ミズナラの堅果サイズと発芽時期がその後の生育に与える影響. 日林北支論43: 152-154.
- 小山浩正・八坂通泰・今 博計(1999)ブナの豊凶予測は天然更新の成功に貢献したか? 日林北支論47: 39-41.
- Krahl-Urban, J. (1959) Die Eichen. 288pp, Paul Parey Verlag, Hamburg.
- Kremer, A. and Petit, R. (1993) Gene diversity in natural populations of oak species. Ann. Sci. For. 50 (Suppl 1) : 186-202.
- Kremer, A., Petit, R. Ducouso, A. and Le Corre, V. (1997) General trends of variation of genetic diversity in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Diversity and Adaptation in Oak Species Proceedings (Edited by Kim C. Steiner) : 81-89.
- Kremer, A., Petit, R. Zanetto, A., Fougere, V., Ducouso, A., Wagner, D. and Chauvin, C. (1991) Nuclear and organelle gene diversity in *Q. robur* and *Q. petraea*. In Genetic Variation of Forest Tree Populations in Europe (Ziehe M, Muller-Starck G, eds) Sauerlander-Verlag, Frankfurt-Am-Main : 141-166.
- Kriebel, H. B. (1965) Parental and provenance effects on growth of red oak seedlings. Proc. Central States For. Tree Improv. Conf. 4 : 19-25.
- 久保田泰則 (1980) 広葉樹のたねと発芽. 北海道の林木育種23(1) : 22-27.
- 倉橋昭夫 (1988) カラマツ属の交雑育種に関する研究. 東大農学部演習林報告79: 1-94.
- 倉橋昭夫 (1996) ブナ産地別相互植栽試験地のフェノロジー - 東京大学北海道演習林の1992~1995年の結果-. 「森林地域における酸性雨等地球環境モニタリング体制の確立」科研成果報告書II : 18-25.
- 倉橋昭夫・小笠原繁男 (1988) 道内ミズナラ類産地試験の結果 - 東京大学北海道演習林の場合-. 北海道の林木育種31(2) : 3-4.
- 倉橋昭夫・小笠原繁男・井口和信・笠原久臣 (1991) ミズナラ多胚性苗の成長. 日林北支論39: 41-43.
- 倉橋昭夫・芝野伸策 (1994) ブナ産地別幼齢木の成長およびフェノロジー - 東京大学北海道演習林植栽地-. 日本林学会第105回大会研究集会「森林地域における環境モニタリング」報告集: 27-32.

- 倉本恵生 (1993) ミズナラ堅果の生産経過とその年次変動. 北海道の林木育種35(2) : 12-15.
- 倉本恵生 (1996) ミズナラの堅果生産の年変動現象と発生機構. 157pp, 北海道大学博士論文.
- 倉本恵生・五十嵐恒夫・門松昌彦・船越三朗 (1995) ミズナラ堅果落下量の年変動 - 北大雨龍地方演習林における13年間の結果 -. 日林北支論43 : 146-148.
- 倉田 悟 (1964) 原色日本林業樹木図鑑第1巻. 331pp, 地球出版, 東京.
- 栗延 晋 (1984) カラマツ精英樹の次代検定に関する研究. 林育研報2 : 1-60.
- Kurinobu, S., Ohya, K. and Kawasaki, H. (1991) Inbreeding depression in two years old F_2 seedling heights of Sugi (*Cryptomeria japonica*) resulting from full-sib and half-sib mating. J. Jpn. For. Soc. 73(5) : 388-392.
- Levin, D. A. (1984) Inbreeding depression and proximity-dependent crossing success in *Phlox drummondii*. Evolution 38(1) : 116-127.
- Loiselle, B. A., Sorl, V. L., Nason, J. and Graham, C. (1995) Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). Am. J. Bot. 82 (11) : 1420-1425.
- Lloyd, M. (1967) Mean crowding. J. Anim. Ecol. 36 : 1-30.
- Manos, P. S. and Fairbrothers, D. E. (1987) Allozyme variation in populations of six northeastern American red oaks (Fagaceae : *Quercus* subg *Erythrobalanus*). Syst. Bot. 12 : 365-373.
- Markert, C. L. and Moller, F. (1959) Multiple forms of enzyme : Tissue, ontogenetic, and species specific patterns. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 45 : 753-763.
- 松浦 堯・田中京子 (1987) ミズナラ産地系統試験 (I) - 羊ヶ丘試験地における8年間の樹高・根元直径の推移 -. 98回日林論 : 247-248.
- Maynard Smith, J. (1989) Evolutionary Genetics. Oxford University Press. (進化遺伝学. 巖佐 庸・原田祐子訳. 1995. 378pp. 産業図書. 東京).
- Mitton, J. R., Sturgeon, K. B. and Davis, M. L. (1980) Genetic differentiation in ponderosa pine along a steep elevation transect. Silvae Genet. 29 : 356-360.
- Miyata, M. and Ubukata, M. (1993) Genetic variation of allozymes in natural stands of Japanese black pine in Tohoku and East Kanto Regions. J. Jpn. For. Sci. 75 : 361-366.
- 宮田増男・生方正俊 (1994) クロマツ天然林におけるアロザイム変異. 日林誌76 : 445-455.
- 宮浦富保 (1998) 検定林データの分散分析プログラム. 林育研報15 : 251-258.
- 宮崎安貞 (1988) 北海道におけるナラ類の遺伝子浸透と自然雑種. 北海道の林木育種31(1) : 5-8.
- 宮崎安貞・井上晋・池田武文・五十嵐恒夫・松田彊・船越三朗・門松昌彦・倉橋昭夫 (1986a) 北海道産ナラ類の森林生態遺伝学的研究 (Ⅲ) - 種間雑種の判定について -. 97回日林論 : 417-418.
- 宮崎安貞・井上晋・岡野哲郎 (1988) 共同研究のあらましと九州大学北海道演習林での成果. 北海道の林木育種31(2) : 1-2.
- 宮崎安貞・井上晋・野上啓一郎・五十嵐恒夫・松田彊・船越三朗・門松昌彦・倉橋昭夫 (1986b) 北海道産ナラ類の森林生態遺伝学的研究 (Ⅳ) - ナラ類の多胚性について -. 97回日林論 : 419-420.
- 宮島 寛 (1986) 北海道広葉樹の王様ナラ. 北方林業38(5) : 1-4.
- Miyoshi, N. (1981) Pollen morphology of Japanese *Quercus* (Fagaceae) by means of scanning electron

- microscope. Jpn. J. Palynol. 27 : 45-54.
- 水井憲雄 (1993) 落葉広葉樹の種子繁殖に関する生態学的研究. 北海道立林業試験場研究報告30 : 1-67.
- 水井憲雄・橋場一行 (1995) 北海道における3年間のミズナラ堅果の豊凶. 日林北支論43 : 149-151.
- 宮木雅美 (1988) ナラ類の堅果の散布様式. 北海道の林木育種31(1) : 36-39.
- 宮木雅美・菊沢喜八郎 (1986) ネズミ類とドングリ - ミズナラの天然更新と関連して(2) -. 北方林業38 : 271-274.
- Merzeau, D., Comps, B., Thiebaut, B., Cuguen, J. and Letouzey, J. (1994) Genetic structure of natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech). Heredity72 : 269-277.
- Mogensen, L. (1965) A contribution to the anatomical development of the acorn in *Quercus* L.. Iowa State J. Sci. 40(3) : 221-225.
- Mogensen, L. (1975) Ovule abortion in *Quercus* (Fagaceae). Am. J. Bot. 62 : 160-165.
- Montalvo, A. M., Conard, S. G., Conkle, M. T. and Hodgskiss, P. D. (1997) Population structure, genetic diversity, and clone formation in *Quercus chrysolepis* (Fagaceae) Am. J. Bot. 84(11) : 1553-1564.
- Moran, G. F. and Adams, W. T. (1989) Microgeographical patterns of allozyme differentiation in Douglas-fir from southwest Oregon. Forest Science 35 : 3-15.
- 森 徳典 (1998) コナラ属, コナラ亜属. (日本の樹木種子 広葉樹編. 勝田 柁・森 徳典・横山敏孝編, 410pp, 林木育種協会, 東京). 64-73.
- Morishita, M. (1959) Measuring of the dispersion of individuals and analysis of the distributional patterns. Mem. Fac. Sci., Kyushu Univ., Ser. E(Biol.) 2 : 215-235.
- Muller-Starck, G., Herzog, S. and Hattemer, H. H. (1993) Intra- and interpopulational genetic variation in juvenile populations of *Quercus robur* L and *Quercus petraea* Liebl. Ann. Sci. For. 50 (suppl 1) : 233-244.
- Na'iem, M., Tsumura, Y., Uchida, K., Nakamura, T., Shimizu, S. and Ohba, K. (1989) Inheritance of isozyme variants of megagametophyte in Japanese red pine. J. Jpn. For. Sci. 71 : 425-434.
- Na'iem, M., Tsumura, Y., Uchida, K., Nakamura, T. and Ohba, K. (1991) Allozyme variation in Japanese red pine trees selected from natural forests. J. Jpn. For. Sci. 73 : 448-452.
- 中村 純 (1980) 日本産花粉の標徴 I. 大阪市立自然史博物館収蔵資料目録第13集. 91pp. 大阪市立博物館. 大阪.
- 中村和子・石田 清・田中京子 (1996) ホオノキの繁殖特性 (IV) - 実生段階で発現する近交弱勢 -. 日林北支論44 : 104-106.
- 中島 清・勝田 柁 (1987) 幼苗期におけるスギの近交弱勢. 98回日林論 : 249-251.
- Nakashizuka, T. and Iida, S. (1995) Composition, dynamics and disturbance regime of temperate deciduous forests in Monsoon Asia.. Vegetatio121 : 23-30.
- 中田 誠・中山 昇 (1994) ブナのフェノロジーと成長の地域差. 「森林地域における環境モニタリング」第1回研究会報告集 : 19-25.
- 中田 誠・中山 昇 (1995) 産地の異なるブナの成育状況とフェノロジー. 新潟大演研報28 : 17-28.
- Nei, M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Nat. Acad. Sci. 70 : 3321-3323.

- Nei, M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. (分子進化遺伝学. 五条堀孝・斉藤成也共訳. 1990. 433pp. 培風館. 東京).
- 「日本の森林土壌」編集委員会 (1983) 日本新林立地図－森林土壌図－ (日本の森林土壌, 「日本の森林土壌」編集委員会, 678pp, 日本森林技術協会, 東京).
- 農林省・気象庁 (1978) 農業気象10年報 (昭和41年～昭和50年)－北海道－. 732pp, 日本気象協会北海道本部, 札幌.
- Norton, D. A. and Kelly, D. (1988) Mast seeding over 33 years by *Dacrydium cupressium* Lamb. (rimu) (Podocarpaceae) in New Zealand : the importance of the economies of scale. *Func. Ecol.* 2 : 399-408.
- Oelkers, J. (1913) Stiel- und Traubeneiche, eine variationsstatistische Untersuchung. *Z. Forst Jagdwes.* 45 : 18-45.
- 大場秀章 (1989) ブナ科. (日本の野生植物 木本 I. 佐竹義輔・原 寛・亙理俊次・富成忠夫編, 321pp, 平凡社, 東京). 66-78.
- 大羽 滋 (1977) 集団の遺伝, 164pp, 東京大学出版会, 東京.
- 大黒 正・岡村政則 (1987) ヒノキ属の種間雑種 (ヒノキ×サワラおよびローソンヒノキ) の形態および細胞学的研究. *林育研報* 5 : 59-87.
- 大井次三郎 (1965) 日本植物誌－顕花編－. 1383pp, 至文堂, 東京.
- 大澤正之・宮島 寛・東山一男 (1955a) 北海道産ナラ材の材質に関する研究 I－産地別ナラ材の材質の比較－. *北大農演報* 17 : 793-869.
- 大澤正之・宮島 寛・東山一男 (1955b) 北海道産ナラ材の材質に関する研究 I－十勝産ナラ材の年輪密度, 比重及び収縮率－. *北大農演報* 20 : 53-76.
- 大谷賢二・佐々木研・古越隆信 (1991) 和華松の形態学的識別拠点 (Ⅲ)－種苗特性分類基準にもとづく識別性の検討－. *102回日林論* : 405-406.
- 岡田 滋 (1975) アカエゾマツの産地間変異 (I) 苗高と開葉時期の産地間変異. *日林誌* 57(9) : 305-310.
- 岡田 滋 (1994) 中国山地のナラ類の変異性と雑種性に関する研究. 33pp, 平成4年度科学研究費補助金 (一般C) 研究成果報告書.
- 岡田 滋・酒井 昭・向出弘正 (1970) トドマツ苗木の産地特性について (V) トドマツ苗木の産地による生育期間の差. *日林誌* 52(12) : 357-361.
- 小野有五 (1994) 氷河時代のドラマー－北海道の創世記－ (北海道・自然のなりたち. 石城謙吉・福田正己編著, 207pp, 北海道大学図書刊行会, 札幌). 1-15.
- 織田春紀・河野耕蔵 (1988) ナラ類産地試験の方向と現況. *北海道の林木育種* 31(2) : 8-10.
- 織田春紀・河野耕蔵・奥山和彦・栄花 茂 (1991) コナラ属における葉の形状の遺伝形質について. *日林北支論* 39 : 44-46.
- 長内 力 (1988) 北海道におけるナラ類の資源の現況と将来. *北海道の林木育種* 31(1) : 9-13.
- 大島紹郎 (1998) カラマツの容積密度数における組合せ能力と遺伝率の推移. *日林北支論* 46 : 157-159.
- Oppermann, A. (1932) Egens Traeformer og racer. *Forstl. Forsogsvaes Dan.* X II. 400pp.
- Pauley, S. S. and Johnson, A. G. (1955) Plantation established during the period 1947-1955. *Harvard Univ.*

- Maria Moors Cabot Found Bot. Res.
- Perez de la Rosa, J., Harris, S. A. and Farjon, A. (1995) Noncoding chloroplast DNA variation in Mexican pines. *Theor. Appl. Genet.* 91 : 1101-1106.
- Perry, D. J. and Knowles, P. (1991) Spatial genetic structure within three sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.) stands. *Heredity* 66 : 137-142.
- Petit, R. J., Kremer, A. and Wagner, D. B. (1993) Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. *Theor. Appl. Genet* 87 : 122-128.
- Piatnitsky, S. S. (1960) Evolving new forms of oaks by hybridization. *Proc. 5th World For. Congr.* 2, 815-818.
- Phipps, J. B. (1984) Problems of hybridity in the cladistics of *Crataegus* (Rosaceae). (Plant Biosystematics. Grant, W. F. ed., Academic Press, London.) 417-438.
- 林木育種センター (1999) 林木育種事業統計. 123pp, 林木育種センター, 水戸.
- Rushton, B. S. (1976) Pollen grain size in *Quercus robur* L and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. *Watsonia* 11 : 137-140.
- Rushton, B. S. (1978) *Quercus robur* L and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. : a multivariate approach to the hybrid problem. 1. Data acquisition, analysis and interpretation. *Watsonia* 12 : 81-101.
- Rushton, B. S. (1993) Natural hybridization within the genus *Quercus* L. *Ann Sci For* 50 Suppl 1 : 73S-90S.
- 齊藤幹夫・中島清・明石孝輝・勝田柁 (1986) クロマツの近親交配に関する研究 15年間の生存率, 樹高および直径における近交弱勢. *林試研報*339 : 23-36.
- 齊藤新一郎 (1980) ミズナラの稚苗の形態について (Ⅱ) -道北地方における産地間の違い-. *日林北支講* 29 : 86-88.
- 齊藤新一郎 (1981) ミズナラの播種の深さ別試験. *日林北支講*30 : 108-110.
- 酒井寛一 (1985) 林木の遺伝子保存と林木育種. *北海道の林木育種*28(1) : 22-31.
- 桜井尚武 (1994) ミズナラの特性とミズナラ林の更新技術.
- 桜井尚武 (1996) ミズナラの特性と更新技術. *遺伝*50(3) : 55-59.
- 桜井尚武・齊藤勝郎 (1984) ミズナラ稚樹の成立経過に関する研究 (Ⅲ) -種子の大きさとメバエの生長-. *95回日林論* : 387-388.
- 佐野淳之 (1985) 続いていくミズナラ林 -更新の連続性-. (天然林を考える. 北海道営林局編, 128pp, 北方林業会, 札幌). 26-31.
- 札幌管区气象台 (1964) 新版 北海道の気象. 391pp, 気象協会北海道地方本部, 札幌.
- 札幌管区气象台 (1993~1998) 地域気象観測降水量 (mm) 月報 石狩, 空知, 後志支庁. *北海道の気象*37~42.
- 佐々木忠兵衛 (1978) 道央自生樹種の着果結実の豊凶. *北海道の林木育種*21(2) : 27-30.
- 佐々木忠兵衛 (1985a) 道央における広葉樹の結実豊凶の周期. *北海道の林木育種*28 : 20-25.
- 佐々木忠兵衛 (1985b) 道央自生広葉樹の着果の周期性. *日林北支講*34 : 13-132.
- 佐々木忠兵衛 (1988) 東京大学北海道演習林におけるミズナラとカシワの着花結実に関する調査. *北海道の林木育種*31(1) : 29-32.
- 佐々木忠兵衛・倉橋昭夫・濱谷稔夫 (1982) アカエゾマツとエゾマツの天然雑種. *日林北支講*31 : 106-109.

- 佐藤敬二 (1961) 日本のマツ第1巻 人工造林編. 274pp, 全国林業改良普及協会, 東京.
- Schlarbaum, S. E. (1991) Detection of variation in leaf flush, flowering, growth and acorn production in a *Quercus rubra* seedling seed orchard. Univ. Tennessee Prog. Rep. to US for. Serv., Agreement No 19-90-035.
- Schlarbaum, S. E. and Bagley, W. T. (1981) Intraspecific genetic variation of *Quercus rubra* L, northern red oak. *Silvae Genet.*30 : 50-56.
- Schoen, D. J. and Latta, R. G. (1989) Spatial autocorrelation of genotypes in populations of *Impatiens pallida* and *Impatiens capensis*. *Heredity* 63 : 181-189.
- Schwarzmann, J. F. and Gerhold, H. D. (1991) Genetic structure and mating system of northern red oak (*Quercus rubra* L.) in Pennsylvania. *For. Sci.* 37 : 1376-1389.
- 瀬川秀良 (1974) 日本地形誌北海道地方, 303pp, 朝倉書店, 東京.
- 清藤城宏 (1978) スギ採種園における自然自殖率の推定. 89回日林論 : 165-167.
- 清藤城宏 (1990) アイソザイム遺伝子をマーカーにしたヒノキ天然林の繁殖構造の解析. 日林誌72(5) : 431-434.
- 島田健一・井出雄二・門松昌彦・鈴木和夫 (1993) ミズナラ, カシワ及びその雑種と, モンゴリナラの遺伝変異 (I) - 葉形と葉身裏の星状毛の変異について -. 104回日林論 : 485-486.
- 清水 一 (1993) がりんえき芽が多いミズナラは塩風に強い. 光珠内季報93 : 9-13.
- 清水 一 (1998) 北海道におけるミズナラの産地特性. (北海道におけるミズナラの分布, 資源, 生態, 造林および保護技術. 北海道立林業試験場編, 85pp, 北海道立林業試験場, 美唄). 10-13.
- 清水 一・菊地 建・山田建四 (1995) 日本海沿岸におけるカシワ芽鱗腋芽数の産地間変異. 日林北支論43 : 140-142.
- 白石 進 (1987~1988) アイソザイム分析法 (1)~(5). 林木の育種142~147.
- Shiraishi, S., Kaminaka, H. and Ohyama, N. (1987) Genetic variation and differentiation recognized at two allozyme loci in hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *J. Jpn. For. Sci.* 69 : 88-93.
- Sniezko, R. A. and Zobel, B. J. (1988) Seedling height and diameter variation of various degrees of inbred and outcross progenies of Loblolly Pine. *Silvae Genetica* 37 : 50-60.
- Sokal, R. R. and Oden, N. L. (1978) Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology. *Biol. J. Lin. Soc.* 10; 199-228. 2. Some biological implication and for applications of evolutionary and ecological interest. *Biol. J. Lin. Soc.* 10; 229-249.
- Sork, V. L., Bramble, J. and Sexton, O. (1993a) Ecology of mast-fruiting in three species of north American deciduous oaks. *Ecology*74 : 528-541.
- Sork, V. L., Huang, S. and Wiener, E. (1993b) Macrogeographic and fine-scale genetic structure in a North American oak species, *Quercus rubra* L. *Ann. Sci. For.* 50(suppl 1) : 261-270.
- Staszkiwicz J. (1970) *Quercus robur* L ; *Quercus sessilis* Erb. In : Variability of leaves and Fruits of Trees and Shrubs in the Forest Associations of the Bialowieza National Park. *Monogr. Bot.* 32 : 222.
- Steinhoff (1993) Result of species hybridization with *Quercus robur* L and *Quercus petraea* (Matt) Liebl. *Ann Sci For* 50, Suppl 1 : 137s-143s.

- Steinhoff (1997) Results of *Quercus* Hybridization Work from 1989 - 1996 at Escherode (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl. And *Quercus robur* L.). Diversity and Adaptation in Oak Species Proceedings (Edited by Kim C. Steiner) : 156-164.
- 隅田明洋 (1996) 広葉樹群落の空間構造 - 個体レベルからのアプローチ -. 日本生態学会誌46 : 31-44.
- Suyama, Y., Tsumura, Y. and Ohba, K. (1992) Inheritance of isozyme variants and allozyme diversity of *Abies mariesii* in three isolated natural forests. J. Jpn. For. Sci. 74 : 65-73.
- 田淵和夫・古越隆信 (1984) スギの自殖S1とS1×S1の弱勢の比較. 関東林育年報16 : 149-165.
- 田島正啓 (1979) ヒノキの自殖に関する遺伝学的研究. 九大演報51 : 39-124.
- Tajima, M. (1990) Inbreeding depression in height, diameter, volume, and survival of Sugi, *Cryptomeria japonica*, to 15 years of age. J. Jpn. For. Soc. 72(3) : 230-233.
- 田島正啓 (1991a) 4. 繁殖技術. (林木育種学. 勝田 桓・大庭喜八郎編, 337pp, 文永堂出版, 東京). 116-130.
- 田島正啓 (1991b) *Acacia mangium*, *A. auriculiformis*及びその自然雑種の葉形等の変異について. 102回日林論 : 403-404.
- 高田克彦・白石 進 (1996) RAPDマーカーを用いた九州地方のスギさし木品種の分類. 九大演報75 : 1-14.
- Takahashi, M., Tsumura, Y., Nakamura, T., Uchida, K. and Ohba, K. (1994) Allozyme variation of *Fagus crenata* in northeastern Japan. Can. J. For. Res. 24 : 1071-1074.
- 高橋丑太郎(1984)広葉樹に惚れて50年. 248pp, 第一印刷, 旭川.
- 竹越俊文(1988)北海道産ナラ材考-ききがき抄-. 北海道の林木育種31(2) : 34-36.
- 竹内寛興・戸田忠雄・千木良治 (1997) ヒノキとサワラの種間交雑種の特徴 - 球果の形態について -. 日林九支研論集50 : 43-44.
- 滝谷由香・水井憲雄・寺澤和彦・梅木 清 (1998) 落葉広葉樹35種の結実豊凶に関する資料. 北海道林業試験場報告35 : 31-41.
- 田中京子・松浦 堯 (1989) ミズナラ産地系統試験 (II) - 羊ヶ丘試験地における6~11年間の樹高成長の推移 -. 100回日林論 : 285-286.
- 谷本丈夫 (1986) ミズナラ林の天然更新技術. 山林86(11) : 33-39.
- 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(5) : 629-636.
- Tsukada, M. (1982) Late-Quaternary development of the *Fagus* forest in the Japanese Archipelago. Jap. J. Ecol. 32 : 113-118.
- Tsumura, Y., Kawahara, T., Wickneswari, R. and Yoshimura, K. (1996) Molecular phylogeny of Dipterocarpaceae in Southeast Asia using RFLP of PCR-amplified chloroplast genes. Theor. Appl. Genet.93 : 22-29.
- 津村義彦・陶山佳久・吉村研介・戸丸信弘・高橋瑞樹 (1997) ミトコンドリアDNAは遺伝資源の指標になるか - モミ属及びブナを事例として -. 林木の育種「特別号」'97 : 55-56.
- 津村義彦・戸丸信弘・陶山佳久・モハマド=ナイム・大庭喜八郎 (1990) アイソザイム実験法. 筑波大演報

6 : 63-95.

上原敬二 (1959) 樹木大図説 (I). 1300pp, 有明書房, 東京.

生方正俊 (1997a) ミズナラ苗の成長に産地間差はあるか. (北海道の森林づくりと林木育種. 北海道林木育種協会編, 171pp, 北海道林木育種協会, 江別). 113-114.

生方正俊 (1997b) 林木遺伝資源保存林の遺伝的変異について知りたい. (北海道の森林づくりと林木育種. 北海道林木育種協会編, 171pp, 北海道林木育種協会, 江別). 157-158.

生方正俊・林 英司・丹藤 修 (1994a) 北海道におけるミズナラの開葉の地域間差. 105回日林論 : 451-452.

生方正俊・飯塚和也 (1999) 北海道のミズナラにおける葉緑体DNA, 葉形質及び開葉時期の地理的変異. 110回日林学術講 : 135-136.

生方正俊・飯塚和也・林 英司 (1998) ミズナラの多胚性 北海道林育年報19 : 47-49.

生方正俊・飯塚和也・板鼻直栄 (1994b) ミズナラ採種園における堅果生産過程のクローン間差. 日林北支論 42 : 16-18.

生方正俊・飯塚和也・河野耕蔵 (1999a) 北海道のミズナラにおける葉および堅果形質の反復率と地理的変異. 日林誌81 : 印刷中.

生方正俊・板鼻直栄 (1997) ミズナラ天然林の交配実態の解明を目的とした人工交配による近交弱勢の推定. 林木の育種特別号'97 : 43-45.

生方正俊・板鼻直栄・河野耕蔵 (1999b) ミズナラ天然林の遺伝的構造と近交弱勢による交配実態の推定. 日林誌81 : 印刷中

生方正俊・板鼻直栄・河野耕蔵 (1999c) ミズナラとカシワの交雑和合性および種間雑種における繁殖能力と開花時期. 日林誌81 : 印刷中.

生方正俊・河野耕蔵・林 英司・久保田正裕 (1994c) アイソザイムを用いたミズナラ天然林の解析. 林木の育種特別号'94 : 24-26.

生方正俊・河野耕蔵・飯塚和也 (1996) ミズナラ×カシワ交雑家系の形態的特性. 日林北海道支論44 : 113-116.

生方正俊・久保田正裕・林 英司 (1994d) アロザイムによるアカエゾマツ採種園の自殖率の推定. 105回日林論 : 297-298.

梅木 清 (1998) 北海道におけるミズナラ資源の量と質. (北海道におけるミズナラの分布, 資源, 生態, 造林および保護技術. 北海道立林業試験場編, 85pp, 北海道立林業試験場, 美唄). 13-15.

Van Valen, L. (1976) Ecological species, multispecies and oaks. *Taxon* 25 : 233-239.

渡辺敦史・白石 進・川瀬英治・戸田忠雄・那須 孝 (1996) DNA分子マーカーによるアカクロマツ (*Pinus × densi-thunbergii*) のゲノム解析 - その雑種性の検証 -. 日林誌78 : 293-300.

渡邊定元 (1994) 樹木社会学. 450pp, 東大出版会, 東京.

Woods, J. H., Blake, G. M. and Allendorf, F. W. (1983) Amount and distribution of isozyme variation in ponderosa pine from eastern Montana. *Silvae Genet.* 32 : 151-157.

山田吾郎 (1998) 北海道の植生史 (1) - 北北海道. (図説日本列島植生史. 安田喜憲・三好教夫編, 298pp, 朝倉書店, 東京). 39-50.

山田国親ほか10名 (1958) 北海道の気候 (日本の気候. 和達清夫監修, 492pp, 東京堂, 東京). 225-252.

- 矢原徹一 (1996) 遺伝的劣化のメカニズム. (保全生態学入門. 鷺谷いずみ・矢原徹一, 270pp, 文一総合出版, 東京) 156-168.
- 山根八重子 (1975) 北海道のミズナラ天然林の変異を追って. 北海道の林木育種19(1): 9-13.
- 横山敏孝・向井 譲 (1988) 種子の生産, 散布, 発芽の実態解明. (ミズナラ等主要広葉樹の用材林育成技術の開発, 農林水産技術会議, つくば) 28-31.
- Young, A. G. and Merriam H. G. (1994) Effects of forest fragmentation on the spatial genetic structure of *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. *Heredity* 72: 201-208.
- Zanetto, A. (1989) Polymorphisme enzymatique du chene sessile (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl). DEA thesis, Universite de Pau et des Pays de l' Adour, Pau, France.