遺伝的変異性を考慮した緑化とは

津村 義彦¹・岩田 洋佳²

Tsumura, Yoshihiko and Iwata, Hiroyoshi: Considering genetic diversity and differentiation in revegetation

1. はじめに

斜面崩壊の防止、裸地の緑化及び災害地に起こる二次災害の防止手段として、これまで多くの緑化事業が行われてきた。その際に用いられる植物種は主に外来の植物種であることが多かった^{20,40)}。現在では生物多様性保全の意識の高まりにより、緑化にはその地域の在来種でしかも遺伝的に近い集団に由来する種子を使う試みが行われようとしている。これは、同種であっても遺伝的に遠い集団では、それぞれの環境に適応した遺伝子を保有している可能性が高く、集団間の遺伝的な関係を無視すると、緑化する地域に適応しない遺伝子を既存の集団に持ち込む可能性があるためである^{7,9,10,13)}。その結果、既存集団への影響だけでなく、それを取り巻く生態系の攪乱も危惧されることになる。遺伝的変異性を考慮した緑化への取り組みは世界的に見てもあまり例が多くないが、三宅島では集団遺伝学的解析結果をもとに治山緑化が行われようとしている。今後、このような大規模な治山事業の一環として行われる緑化では、遺伝的な調査の必要性が重視されることになると思われる。日本緑化工学会の「生物多様性保全のための緑化植物の取り扱い方に関する提言」の中でも“遺伝子情報は進化の長い歴史の過程で獲得されてきたかけがえのない自然界の遺産であり、遺伝子攪乱は遺伝子の学術的価値と資源的価値を消失させるものであることに配慮しなければならない。”として遺伝的多様性及び集団の遺伝的分化情報の必要性が述べられている¹⁷⁾。

本論では遺伝的変異性及び集団分化は何によって引き起こされるのか、またどのような遺伝的な調査をすれば遺伝子汚染のない緑化が可能になるのかを述べたい。

2. どのゲノムを調べるのか

植物には一般的に母性遺伝するオルガネラ DNA (葉緑体 DNA とミトコンドリア DNA) と両性遺伝する核 DNA が存在する。これら両方のゲノムの変異を調べることで、より正確に集団間の遺伝的分化を把握することができる。なぜなら両性遺伝する核 DNA では花粉及び種子の両方を通して次世代に伝わるが、母性遺伝するオルガネラ DNA では一般

に花粉に比較すると拡散範囲の限られる種子を通してしか伝わらないことが主な原因で、遺伝的分化をより明瞭に示す可能性が高いためである^{6,8)}。このように植物種の遺伝的変異性を把握したい場合は核 DNA とオルガネラ DNA の両方で評価すべきである。オルガネラ DNA の変異性を調べる場合は、ミトコンドリア DNA に比べ塩基配列情報が多い葉緑体 DNA の方が分析が容易である。

実際に核ゲノムを調査する場合は、遺伝的情報の蓄積のない種ではアロザイム分析^{*1 32)} がよいであろう。なぜならアロザイムはそのほとんどが共優性遺伝マーカー^{*2} で、アロザイムの所在と遺伝子座数及び遺伝様式が明らかになっているため、遺伝性を調査することなく利用できるためである。また、優性遺伝マーカー^{*3} ではあるがゲノム全体をランダムかつ高効率に調べる AFLP 法 (Amplified Fragment Length Polymorphism)³⁸⁾ も集団間の遺伝的関係を調査する場合に有効である。なお、倍数性の植物種では、アロザイムの電気泳動パターンが複雑になり解読できない場合がある。このような場合に AFLP 法によるバンドパターンの類似性からどの集団が目的の集団に遺伝的に最も近縁であるかを調べることもできる。しかし、この場合には、集団遺伝学での遺伝的距離や遺伝的分化、移住率などの各種パラメータの正確な算出は難しい。

次にオルガネラ DNA の分析には、塩基配列情報が多い葉緑体 DNA^{21,23)} の遺伝子間領域を PCR (Polymerase Chain Reaction) で増幅し、塩基配列を読みとり種内及び集団間の変異性を調査する。検出された異なる塩基配列をそれぞれ異なるタイプとし、遺伝的多様性及び集団間分化の程度を推

*1 アロザイム分析：遺伝的に支配されている酵素のポリペプチドの個体間の違いを電気泳動と酵素の活性染色技術で検出する方法である。古典的な分析方法であるが、酵素活性の高い組織を用いて分析すれば確実なデータの取得が可能である。

*2 共優性遺伝マーカー：ヘテロ接合型が認識できる遺伝マーカーで情報量が多い。

*3 優性遺伝マーカー：ヘテロ接合型が認識できないマーカーである。例えばエンドウマメの表皮の“まる”と“しわ”の表現型は“まる”が優性で“しわ”が劣性であるため遺伝子型がヘテロ接合の場合、その表現型は優性のタイプである“まる”となる。DNA マーカーとしては RAPD, AFLP などが優性遺伝マーカーである。

¹ 森林総合研究所, Forestry and Forest Products Research Institute

² 中央農業総合研究センター, National Agriculture Research Center

表-1 集団間の遺伝的分化レベル (G_{ST}^*) と種の特徴との関係⁵⁾

特 徴	集団間の遺伝的分化程度	
	低い	高い
分類群 (裸子, 双子葉, 単子葉)	裸子植物	被子植物
生活環 (1年生, 多年生, 永年性)	永年性	1年生
地理的な範囲 (局所的, 狭い地域, 地域的, 広域的)		有意な違いはない
地域的な分布 (亜寒帯-温帯, 温帯, 亜熱帯, 熱帯)	亜寒帯-温帯植物	温帯及び熱帯植物
交配様式 (自殖, 混合生殖, 他殖)	他殖 (風媒花)	自殖
種子散布 (重力, 動物, 破裂, 風)	重力及び動物付着散布	重力散布
生殖様式 (有性生殖, 無性生殖)		有意な違いはない
遷移 (早期, 中期, 晚期)	晚期遷移	早期及び中期遷移

* G_{ST} は遺伝子分化係数で 0 ~ 1 の値を取り, 0 ならば遺伝的に完全に同じ集団で 1 ならば全く異なる集団であることを示す。

定する。一般的に被子植物では母性遺伝するため集団間の遺伝的分化が強く出るが、針葉樹では父性遺伝するために分化の程度は母性遺伝の種に比較すると大きくない^{12,15)}。オルガネラでは種内多型が見られる領域に限られるため、種によっては変異が見られないものも存在する。

3. 遺伝的分化を引き起こすものは何か

遺伝的分化はその種の生態的特性及び集団の歴史的な変遷に密接に関係している。生態的特性とは繁殖様式 (無性繁殖, 有性繁殖), 交配様式 (他殖性, 自殖性), 種子散布様式 (重力散布, 風散布, 動物散布など), 花粉媒介者 (風媒, 動物媒), 一世代の寿命などである。また集団の歴史的な変遷とは過去の分布 (花粉分析情報, 化石データ) から現在の天然分布に至った過程のことである。これらのデータがあればある程度の遺伝的分化の予測が可能かもしれない。これまでの研究ではどのような生態特性を持った種が遺伝的分化を起こしやすいか明らかになっている (表-1, 表-2)。Hamrick ら⁵⁾の総説によると、一般的には温帯及び熱帯植物で早期及び中期の遷移で出現する一年性の被子植物で自殖によって種子生産を行い重力散布によって種子を散布する植物種が集団間分化を起こしやすい傾向があるようである。特に一年性の種は永年性の樹木に比べると集団間の多様性はほぼ 4 倍大きく、自殖による交配を行う種は風媒で他殖の種と比較すると 5 倍も集団間の遺伝的分化が起こりやすい (表-2)。一般的には一世代が短く自殖で種子を生産し、その種子が重力散布である種が最も遺伝的分化を起こしやすく、逆に一世代が長く風媒花で他殖により種子生産を行い、その種子が羽根などをもち遠くへ運ばれる種ほど遺伝的分化が起こりにくいことになる。

わが国の樹木の遺伝的多様性及び分化が調査された種は 15 種で針葉樹が多く、広葉樹はブナとヤブツバキだけである (表-3)。これまでに調査された樹木は全てが風媒花で他殖性の種であるため、集団が隔離分布しているハイマツ、オオシラビソと虫媒のヤブツバキを除くと、集団間分化の程度は小さい。しかしながら母性遺伝するオルガネラ DNA レベルでの集団間分化は大きい。例外の数種を除くとほとんどの種が核 DNA で遺伝子分化係数 (G_{ST}) が 0.05 以下なのに、オルガネラ DNA ではその 4 倍から 19 倍の分化が起こって

表-2 集団間の遺伝的多様性の程度と交配様式と種子散布⁴⁾

		種 数	平均 G_{ST}^*
交配様式	自殖 (1年生植物)	31	0.560
	自殖 (多年生植物)	8	0.329
	混合生殖	48	0.243
	他殖 (動物散布)	32	0.187
	他殖 (風散布)	44	0.068
種子散布形態	重力散布	59	0.446
	動物散布 (付着)	18	0.398
	動物散布 (捕食)	14	0.332
	破裂	24	0.262
	羽根/羽毛	48	0.079

* G_{ST} は遺伝子分化係数で 0 ~ 1 の値を取り, 0 ならば遺伝的に完全に同じ集団で 1 ならば全く異なる集団であることを示す。

いることが明らかになっている。このように両ゲノムでの評価を行わないと誤った結論を得る可能性がある。またオルガネラでの分化はそれぞれの種の氷河期の逃避地とその後の分布変遷とに密接な関連がある^{16,19,31)}。すなわち氷河期またはそれ以前からの長い隔離分布は種の集団間分化を促進させるが、その後の急速な分布拡大ではある一部の変異だけしか伝わらないため歴史の新しい集団では遺伝的変異性が低いことが多い。ブナの例では現在の分布の中心である東北日本海側は、最終氷期後の急速な分布拡大に伴って形成された森林であるため、西日本集団と比較するとミトコンドリア DNA 及び葉緑体 DNA とともに低い変異性しか示していない^{2,18,30)}。また遺伝的分化の高い西日本集団間でも集団内変異はあまり高くない。このように風媒花で他殖性の種はオルガネラ DNA レベルでも同じ環境の地域内ではあまり遺伝的分化が起こっていないことも明らかになっている。すなわちこのような種では比較的狭い範囲内 (例えば行政区単位) であれば、緑化の種子源として問題なく使用できるであろう。しかし、これ以外の種は前述した遺伝的分化の大きな自殖性、一年性の植物種は狭い地域内の利用であっても遺伝的な調査を行うべきである。幸いなことにこれまでに緑化に用いられてきた在来種の多くは多年生または永年性であるため集団間の遺伝的な分化は大きくないかもしれない。しかしそれらほとんどの種では自殖性なのか他殖性なのかは不明なものが多いため (表-4)、交配様式の調査が必要である。また花粉媒介者が虫媒性である植物の例では森林の断片化により遺伝的分化が促

表-3 わが国で報告のある樹木の遺伝的多様性と集団分化

対象ゲノム	遺伝 マーカー	和 名	学 名	分析 集団 数	分析遺伝子 座数または 領域数	遺伝子 多様度 (h) ^a	遺伝子分化 係数 ^b (G_{ST}) または F_{ST}	文 献
核	アロザイム	ハイマツ	<i>Pinus pumila</i>	18	19	0.271	0.170	Tani et al. (1996) ²⁷⁾
	"	ゴヨウマツ	<i>Pinus parviflora</i>	16	11	0.272	0.044	Tani et al. (in press) ²⁶⁾
	"	クロマツ	<i>Pinus thunbergii</i>	22	14	0.259	0.073	宮田・生方 (1994) ¹¹⁾
	"	エゾマツ	<i>Picea glehnii</i>	10	12	0.088	0.022	Wang and Nagasaka (1997) ³⁹⁾
	"	オオシラビン	<i>Abies mariesii</i>	11	22	0.054	0.144	Suyama et al. (1997) ³⁴⁾
	"	トドマツ	<i>Abies sachalinensis</i>	18	4	0.157	0.015	Nagasaka et al. (1997) ¹⁴⁾
	"	カラマツ	<i>Larix kaemferi</i>	8	7	0.169	0.042	Uchida et al. (未発表)
	"	スギ	<i>Cryptomeria japonica</i>	5	9	0.178	0.015	Tsumura and Ohba (1992) ³⁴⁾
	"	スギ	<i>Cryptomeria japonica</i>	17	12	0.196	0.040	Tomaru et al. (1994) ²⁹⁾
	"	ヒノキ	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	6	2	0.305	0.003	Shiraishi et al. (1987) ²²⁾
	"	ヒノキ	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	11	12	0.202	0.045	Uchida et al. (1997) ³⁷⁾
	"	ブナ	<i>Fagus crenata</i>	14	14	0.202	0.014	Takahashi et al. (1994) ²⁵⁾
	"	ブナ	<i>Fagus crenata</i>	23	11	0.187	0.038	Tomaru et al. (1996) ²⁸⁾
	"	ヤブツバキ	<i>Camellia japonica</i>	60	20	0.265	0.144	Wendel and Parks (1985) ⁴¹⁾
	CAPS	スギ	<i>Cryptomeria japonica</i>	11	14	0.281	0.047	Tsumura and Tomaru (1999) ³⁶⁾
葉緑体	RFLP	オオシラビン	<i>Abies mariesii</i>	7	1	0.443	0.102	Tsumura et al. (1994) ³³⁾
	塩基配列	ブナ	<i>Fagus crenata</i>	21	3	0.0022 ^c	0.950	Okaura and Harada (2002) ¹⁸⁾
ミトコンドリア	塩基配列	ブナ	<i>Fagus crenata</i>	45	2	—	—	Fujii et al. (2002) ²⁾
	RFLP	ゴヨウマツ	<i>Pinus parviflora</i>	15	2	0.717	0.863	Tani et al. (in press) ²⁶⁾
	RFLP	オオシラビン	<i>Abies mariesii</i>	7	2	0.000	0.000	Tsumura and Suyama (1998) ³⁵⁾
	RFLP	ウラジロモミ	<i>Abies homolepis</i>	8	2	0.604	0.479	〃
	RFLP	モミ	<i>Abies firma</i>	7	2	0.741	0.859	〃
	RFLP	シラビン	<i>Abies veitchii</i>	12	2	0.039	0.260	〃
	RFLP	トドマツ	<i>Abies sachalinensis</i>	5	2	0.292	0.198	〃
	RFLP	ブナ	<i>Fagus crenata</i>	17	3	0.031	0.963	Tomaru et al. (1998) ³⁰⁾

^a 遺伝子多様度は0から1までの値を取り、1に近づくほど遺伝的変異性が高いことを示す。

^b 遺伝子分化係数は0から1までの値を取り、0ならば遺伝的に全く分化していないこと1ならば完全に分化していることを示す。

^c 塩基多様度。

表-4 緑化に用いられている在来種とその繁殖に関する特徴

和 名	学 名	世代サイクル	花粉媒介者	交配様式	種子散布形式	繁殖様式
ヨモギ	<i>Artemisia princeps</i>	多年生	風	?	重力散布	種子繁殖
ススキ	<i>Miscanthus sinensis</i>	多年性	風	他殖性?	風散布	栄養繁殖, 種子繁殖 (アポミクシス?)
チガヤ	<i>Imperata cylindrica</i> var. <i>koenigii</i>	多年性	風	?	風散布	栄養繁殖, 種子繁殖
コマツナギ	<i>Indigofera pseudotinctoria</i>	多年性	虫	?	重力散布	種子繁殖
イタドリ	<i>Polygonum cuspidatum</i>	多年性	虫	?	風散布	栄養繁殖, 種子繁殖
ヤマハギ	<i>Lespedeza bicolor</i>	多年性	虫	?	重力散布	種子繁殖, 栄養繁殖
メドハギ	<i>Lespedeza juncea</i>	多年性	虫	?	重力散布	種子繁殖, 栄養繁殖
ヤマハンノキ	<i>Alnus hirsute</i> Turcz. var. <i>sibirica</i>	永年性	風	?	風散布	種子繁殖
ヤシャブシ	<i>Alnus firma</i>	永年性	風	?	風散布	種子繁殖
ヒメヤシャブシ	<i>Alnus pendula</i>	永年性	風	?	風散布	種子繁殖
オオバヤシャブシ	<i>Alnus sieboldiana</i>	永年性	風	?	風散布	種子繁殖
クロマツ	<i>Pinus thunbergii</i>	永年性	風	他殖性	風散布	種子繁殖
アカマツ	<i>Pinus densiflora</i>	永年性	風	他殖性	風散布	種子繁殖

進されたという報告もあるため³⁾, たとえ近隣の集団であっても遺伝的には同質とは限らないので注意が必要である。

4. 調査事例—三宅島の治山緑化のための種子源の探索—

三宅島は2000年7月の噴火後、大量に噴出した火山灰ならびに現在も噴出が続く火山ガスにより、島の多くの地域の

植生が被害を受けている。被害地域の緑化のために火山被害に比較的強いハチジョウイタドリ、ハチジョウススキ、オオバヤシャブシの3種について伊豆諸島及び伊豆半島の各集団内の遺伝的多様性ならびに集団間の遺伝的分化を調査している。この調査結果から三宅島の植物集団に遺伝的に最も近縁で同じ程度の多様性をもった集団を、採取候補地として選び

出すことを目的としている。そこで、両性遺伝する核ゲノムについては酵素多型のアロザイム分析で、母性遺伝する葉緑体 DNA については遺伝子間領域の塩基配列多型を調査した。その結果、ハチジョウイタドリは核ゲノムレベルで集団間の遺伝的分化の程度が大きく ($G_{ST}=0.18$)、また三宅島集団は葉緑体 DNA 変異も他の島にはない独自の変異を保有していた (Iwata et al., 未発表)。ハチジョウススキは核ゲノムレベルの遺伝的分化は低く ($G_{ST}=0.03$)、三宅島集団は御蔵島集団と最も近縁で、葉緑体 DNA 変異も他の諸島と共有していた。オオバヤシャブシは染色体数が $2n=56=8x$ の同質 8 倍体種であるため、アロザイム分析では遺伝子型の判読が難しかった。そこで優性遺伝マーカーではあるがゲノム全体をランダムに調べることができる AFLP 法を採用した。その結果、集団間変異は全体の 4% で、三宅島集団は神津島集団と最も近縁であり、葉緑体 DNA 多型も伊豆半島を除いた集団と共有していた。

この結果から緑化対象 3 種とも種子源とすべき集団が異なった。ハチジョウイタドリでは、核ゲノムレベルでも遺伝的分化が大きく、三宅島集団が独自の葉緑体 DNA 変異を保有していたことから、他地域からの導入は極力避けるべきである。またハチジョウススキでは、御蔵島から、オオバヤシャブシでは、神津島から導入するのが最も適切である。このように種により候補集団が異なったのは遺伝的分化が単に地理的な距離との関係だけではなく、その種のもつ分布変遷の歴史及び生態学的な特徴に大きく影響されていることを示している。すなわち栄養繁殖やアポミクシスなどの繁殖形態、花粉及び種子の散布形態などの違いである。このように、遺伝的に近い集団を選定するためには、単に地理的な近さだけではなく、集団遺伝学的な実データに基づく判断が重要であると考えられる。しかし、選定に遺伝マーカーによる実データを用いたとしても、なお注意が必要である。すなわち、本調査で用いた遺伝マーカーはそのほとんどが淘汰に対して中立であると考えられる。そのため、例えば島間での生育環境が大きく異なっているところがあれば、中立的な遺伝マーカーは淘汰の影響を受けないが、適応に関わる遺伝子の頻度は大きく影響をうけていることが予想される。この場合は、遺伝マーカーだけでなく、適応に強く関わると考えられる形質形態を含んだ総合的な調査が必要となる。また外来種の侵入の例のように、人間活動が活発になるに従い人と物資の移動に伴って、自然状態よりも花粉及び種子の拡散がより広がっていることも考えられる。この結果生じた変化は自然に起きた変異と見分けることが難しい場合が多い。なお、たとえ遺伝的に近縁な集団から採種しても、導入集団の遺伝的多様性が低いと、既存の集団の遺伝的多様性を大幅に減少させるおそれがある¹³⁾。この調査では 3 植物種の島間での遺伝的な違いを評価するために、それぞれの集団から広範囲に材料を収集した。実際の緑化事業において緑化用の種子を採取する場合にも、ある集団の狭い範囲から種子を集めるのではなく、なるべく広い範囲の多くの個体から種子を採種することが重要である。

5. 将来に向けて

5.1 緑化用植物種の遺伝的多様性情報の集積

現在、在来種を用いた緑化事業が行われ始めている。これまでに遺伝的多様性及び分化研究はよく行われてきたのは有用針葉樹であり (表-3)、緑化用植物種となるとほとんどデータがない。遺伝的汚染の防止を考慮に入れた緑化事業のためには、早急に対象種での交配様式や遺伝的な分化程度の調査が必要となる。日本緑化工学会の「生物多様性保全のための緑化植物の取り扱い方に関する提言」¹⁷⁾ の中でも研究者に対して以下のことが求められている。① 侵略種の判定法開発、② 緑化に用いられる主要な植物種の地域変異構造 (遺伝子および表現形質) の解明、③ 地域性系統の同定技術の開発、④ 多様な生物-ハビタット関係の整理とそのメカニズムの解明、⑤ 地域性種苗の貯蔵方法及び急速苗育成方法の開発、⑥ 現場産生態系資源の利用技術の開発である。精力的に行えば対象種の遺伝的多様性データベース作りはそう長い時間はかからないであろう。問題はそのデータベースを作る際の態勢作りと予算措置である。遺伝子汚染の防止を考慮した緑化のためには学会の支援のものにデータベースの構築から実際に対象種の遺伝解析まで行うコンソーシアムを立ち上げる必要があるかもしれない。また、解析結果を実際の施行へ反映させる場合における判断基準についての議論も不可欠となるだろう¹⁾。

5.2 適応的遺伝子の調査

集団遺伝学的なアプローチでは中立的な遺伝マーカーを用いて集団間の遺伝的な分化を調査することができる。しかしながら、上記のように実際には淘汰に関わる変異を見逃す可能性も否定できない。十分な時間と労力をかけることができれば生態、環境、生理及び遺伝などの総合的な調査は可能である。しかし治山緑化などに用いる種子源については、限られた条件の中で何を行えばよいかを考えた時、少なくとも相対的であるが遺伝的な違いを定量化できる集団遺伝学的な調査は行うべきである。また将来に向けて淘汰に関わる形態形質の評価も検討する必要がある。現在では幾つかのモデル生物でゲノム研究が盛んに行われており適応的な遺伝子も単離され始めている。また野生またはそれに近い植物種でもゲノム研究が始まっている。これらの研究の進展により、それぞれの種で淘汰に関わる環境適応的な遺伝子の調査が可能になり、多くの詳細な知見が得られる時期はそう遠くないであろう。

緑化に用いられている在来植物の生態的特性については筑波大学中村徹氏と上條隆志氏及び森林総合研究所新山馨氏にご助言を頂いた。また千葉大学小林達明氏には原稿に対して有益な助言を頂いた。ここに感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Crandall, K. A., Bininda-Emonds, O. R. P., Mace, G. M. and Wayne, R. K. (2000) Considering evolutionary processes in

- conservation biology: an alternative to 'evolutionarily significant units'. *Trends Ecol. Evol.*, 15: 290-295.
- 2) Fujii, N., Tamaru, N., Okuyama, K., Koike, T. and Ueda, K. (2002) Chloroplast DNA phylogeography of *Fagus crenata* (Fagaceae) in Japan. *Plant Syst. Evol.*, 232: 21-33.
 - 3) Hamilton, M. B. (1999) Tropical tree gene flow and seed dispersal. *Nature*, 401: 129-130.
 - 4) Hamrick, J. L. and Godt, M. J. W. (1989) Allozyme diversity in plant species. In: *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources* (eds. Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. and Weir, B. S.) pp. 43-63, Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts.
 - 5) Hamrick, J. L., Godt, M. J. W., Murawski, D. A. and Loveless, H. D. (1991) Correlations between species traits and allozyme diversity: Implications for conservation biology. In: *Genetics and Conservation of Rare Plants* (eds. Falk, D. A. and Holsinger, K. E.) pp. 75-86, Oxford Univ. Press, New York.
 - 6) Hu, X. S. and Ennos, R. A. (1999) Impacts of seed and pollen flow on population genetic structure for plant genomes with three contrasting modes of inheritance. *Genetics*, 152: 441-450.
 - 7) Lesica, P. and Allendorf, F. W. (1999) Ecological genetics and the restoration of plant communities: Mix or match? *Restoration Ecol.*, 7: 42-50.
 - 8) McCauley, D. E. (1995) The use of chloroplast DNA polymorphism in studies of gene flow in plants. *Trend Ecol. Evol.*, 10: 198-202.
 - 9) Millar, C. I. and Libby, W. J. (1989) Restoration: Disneyland or a native ecosystem? A question of genetics. *Restoration and Manag. Note*, 7: 18-23.
 - 10) Millar, C. I. and Libby, W. J. (1991) Strategies for conserving clinal, ecotypic, and disjunct population diversity in widespread species. In: *Genetics and Conservation of Rare Plants* (eds. Falk, D. A. and Holsinger, K. E.) pp. 149-170, Oxford University Press, New York.
 - 11) 宮田増男・生方正俊 (1994) クロマツ天然性林におけるアロザイム変異, *日林誌*, 76: 445-455.
 - 12) Mogensen, H. L. (1996) The hows and whys of cytoplasmic inheritance in seed plants. *Am. J. Bot.*, 83: 383-404.
 - 13) Montalvo, A. M., Williams, S. L., Rice, K. J., Buchmann, S. L., Cory, C., Handel, S. N., Nabhan, G. P., Primack, R. and Robichaux, R. H. (1997) Restoration biology: a population biology perspective. *Restoration Ecol.*, 5: 277-290.
 - 14) Nagasaka, K., Wang, Z. M. and Tanaka, K. (1997) Genetic variation among natural *Abies sachalinensis* populations in relation to environmental gradients in Hokkaido, Japan. *Forest Genet.*, 4: 43-50.
 - 15) Neale, D. B., Marshall, K. A. and Sederoff, R. R. (1989) Chloroplast and mitochondrial DNA are paternally inherited in *Sequoia sempervirens* D. Don Endl. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 9347-9349.
 - 16) Newton, A. C., Allnutt, T. R., Gillies, A. C. M., Lowe, A. J. and Ennos, R. A. (1999) Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species. *Trend Ecol. Evol.*, 14: 140-145.
 - 17) 日本緑化工学会 (2002) 生物多様性保全のための緑化植物の取り扱い方に関する提言, *日本緑化工学会誌*, 27: 481-491.
 - 18) Okaura, T. and Harada, K. (2002) Phylogeographical structure revealed by chloroplast DNA variation in Japanese beech (*Fagus crenata* Blume). *Heredity*, 88: 322-329.
 - 19) Petit R. J., Pineau, E., Demesure, B., Bacilieri, R., Ducousso, A. and Kremer, A. (1997) Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 9996-10001.
 - 20) 佐々木寧 (2002) 法面緑化における外国産種子の侵入, 日本生態学会編, 村上興正・鷺谷いずみ監修, 外来種ハンドブック, 地人書館, p. 212.
 - 21) Shinozaki, K., Ohme, M., Tanaka, M., Wakasugi, T., Hayashida, N., Matsubayashi, T., Zaita, N., Chunwongse, J., Obokata, J., Yamaguchi-Shinozaki, K., Ohto, C., Torazawa, K., Meng, B. Y., Sugita, M., Deno, H., Kamogashira, T., Yamada, K., Kusuda, J., Takaiwa, F., Kato, A., Tohdoh, N., Shimada, H. and Sugiura, M. (1986) The complete nucleotide sequence of tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression. *EMBO J.*, 5: 2043-2049.
 - 22) Shiraishi, S., Kaminaka, H. and Ohyama, N. (1987) Genetic variation and differentiation recognized at two allozyme loci in hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *J. Jpn. For. Soc.*, 69: 88-93.
 - 23) Soltis, D. E., Soltis, P. S. and Milligan, B. G. (1992) Intraspecific chloroplast DNA variation: systematic and phylogenetic implications. In: *Molecular Systematics of Plants* (eds. Soltis, P. S., Soltis, D. E. and Doyle, J. J.) pp. 117-150, Chapman and Hall, New York.
 - 24) Suyama, Y., Tsumura, Y. and Ohba, K. (1997) A cline of allozyme variation in *Abies mariesii*. *J. Plant Res.*, 110: 219-226.
 - 25) 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.
 - 26) Tani, N., Maruyama, K., Tomaru, N., Uchida, K., Araki, M., Tsumura, Y., Yoshimaru, H. and Ohba, K. Genetic diversity between nuclear and mitochondria genomes in *Pinus parviflora* populations. *Heredity* (in press).
 - 27) Tani, N., Tomaru, N., Araki, M. and Ohba, K. (1996) Genetic diversity and differentiation in populations of Japanese stone pine (*Pinus pumila*) in Japan. *Can. J. For. Res.*, 26: 1454-1462.
 - 28) Tomaru, N., Mitsutsuji, T., Takahashi, M., Tsumura, Y., Uchida, K. and Ohba, K. (1996) Genetic diversity in Japanese beech, *Fagus crenata*: influence of the distributional shift during the late-Quaternary. *Heredity*, 78: 241-251.
 - 29) Tomaru, N., Tsumura, Y. and Ohba, K. (1994) Genetic variation and population differentiation in natural populations of *Cryptomeria japonica*. *Plant Species Biol.*, 9: 191-199.
 - 30) Tomaru, N., Takahashi, M., Tsumura, Y., Takahashi, M. and Ohba, K. (1998) Intraspecific variation and phylogeographic patterns of *Fagus crenata* (Fagaceae) mitochondrial DNA. *Am. J. Bot.*, 85: 629-636.
 - 31) 津村義彦 (2001) 集団遺伝学知見から考えられるわが国の針葉樹の分布変遷, *植生史研究*, 10: 3-16.
 - 32) 津村義彦 (2001) アロザイム実験法, 種生物学会編, 森の分子生態学—遺伝子が語る森林のすがた—, 文一総合出版, 東京, pp. 183-220.
 - 33) Tsumura, Y., Taguchi, H., Suyama, Y. and Ohba, K. (1994) Geographical cline of chloroplast DNA variation in *Abies*

- mariesii*. Theor. Appl. Genet., 89: 922–926.
- 34) Tsumura, Y. and Ohba, K. (1992) Allozyme variation of five natural populations of *Cryptomeria japonica* in western Japan. Jpn. J. Genet., 67: 299–308.
- 35) Tsumura, Y. and Suyama, Y. (1998) Differentiation of mitochondrial DNA polymorphisms in populations of five Japanese *Abies*. Evolution, 52: 1031–1042.
- 36) Tsumura, Y. and Tomaru, N. (1999) Genetic diversity of *Cryptomeria japonica* using co-dominant DNA markers based on Sequenced-Tagged Site. Theor. Appl. Genet., 98: 396–404.
- 37) Uchida, K., Tomaru, N., Tomaru, C., Yamamoto, C. and Ohba, K. (1997) Allozyme variation in natural populations of hinoki, *Chamaecyparis obtusa* (Sieb. et Zucc.) Endl. and its comparison with the plus-tree selected from artificial stands. Breed. Sci., 47: 7–14.
- 38) Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Fritjters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res., 23: 4407–4414.
- 39) Wang, Z. M. and Nagasaka, K. (1997) Allozyme variation in natural populations of *Picea glehnii* in Hokkaido, Japan. Heredity, 78: 470–475.
- 40) 鷺谷いずみ (2002) 緑化用外来牧草, 日本生態学会編, 村上興正・鷺谷いずみ監修, 外来種ハンドブック, 地人書館, p. 207.
- 41) Wendel, J. F. and Parks, C. R. (1985) Genetic diversity and population structure in *Camellia japonica* L. (Theaceae). Amer. J. Bot., 72: 52–65.