

# 琉球大学学術リポジトリ

核型によるスギ科樹木の種の識別とその類縁関係(生産環境学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 馬場, 繁幸, Baba, Shigeyuki メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/3834">http://hdl.handle.net/20.500.12000/3834</a>

## 核型によるスギ科樹木の種の識別とその類縁関係

馬場繁幸\*

Shigeyuki BABA : Karyological study of identification and relationship between species of the family Taxodiaceae

### Summary

*Cryptomeria japonica*, family Taxodiaceae, is one of the most important tree species for forestry in Japan. This study was carried out for the purpose of getting basic information on tree breeding of Taxodiaceae species by means of karyological studies for identification and to establish the relationship by karyotype analysis, staining of nucleolar organizing regions (NORs) and nucleoli, and comparison of relative DNA amounts. In this study, 12 species and three cultivars of nine genera of Taxodiaceae, two species of Taxaceae, one species of Araucariaceae and two species of Cupressaceae were examined. Analysis of the karyotype of *Taxodium ascendens* and of three species of *Athrotaxis* (Taxodiaceae) could not be done due to lack of suitable materials.

#### Results:

##### I. Karyological analysis.

1. One triploid cultivar, *Cr. japonica* cv. *Urusebarusugi* and one triploid of *Ta. mucronatum* were found. On the basis of chromosome complements, nine genera of Taxodiaceae were divided into three groups according to the somatic chromosome numbers: this was  $2n=20$  in *Sciadopitys*; it was  $2n=66$  in *Sequoia*; and  $2n=22$  in other genera.
2. Every species of the Taxodiaceae examined possessed at least a pair of chromosomes with an intercalary trabant or a terminal trabant (a trabant) or a secondary constriction in its chromosome complements: *Metasequoia glyptostroboides* possessed three pairs of intercalary trabant chromosomes; *Taiwania cryptomerioides*, *Taxodium distichum* and *Ta. mucronatum* possessed a pair of intercalary trabant chromosomes; *Cr. japonica* cv. *Measa* and *Cr. fortunei* possessed a pair of intercalary trabant chromosomes, but *Cr. japonica* cv. *Urusebarusugi* (triploid) possessed three intercalary trabant chromosomes and two secondary constricted chromosomes and *Cr. japonica* cv. *Iwaosugi* possessed a pair of intercalary chromosomes and only one secondary constricted

---

\*琉球大学農学部生産環境学科

chromosome; *Sc. verticillata* possessed a pair of secondary constricted chromosomes; *Se. sempervirens* had six terminal trabant chromosomes, *Cu. lanceolata* and *Cu. konishii* possessed each a pair of terminal trabant chromosomes.

3. *Sc. verticillata* possessed 20 chromosomes in its somatic chromosome complement with neither a pair of intercalary trabant chromosomes nor trabant chromosomes, but with a pair of secondary constricted chromosomes.

4. According to chromosome numbers and karyological features of their chromosome complements, the examined species of the Taxodiaceae were divided into six groups with additional four subgroups.

5. The karyological study of four species related to the Taxodiaceae, *Taxus cuspidata*, *Torreya nucifera*, *Araucaria angustifolia* and *Chamaecyparis obtusa* were carried out for comparison of their karyological features with those of Taxodiaceae. *Ta. cuspidata* possessed 24 chromosomes in the somatic chromosome complement with a pair of intercalary trabant chromosomes, *To. nucifera* possessed 22 chromosomes with a pair of secondary constricted ones, *A. angustifolia* possessed 26 with a pair of intercalary trabant chromosomes, and *Chamaecyparis obtusa* possessed 22 with a pair of secondary constricted chromosomes.

## II. Staining of nucleolar organizing regions (NORs) and nucleoli.

1. The Ag-Incubation staining method was modified in the following manner. First the Feulgen reaction was applied in the usual manner and the chromosomes were observed; second the slide was flame-dried before removing the cover-glass and the preparation on the slide was air-dried for at least 12 hours; thirdly the preparation was incubated for about two to three hours in 50% (w/v) silver nitrate at 50°C; finally the preparation was mounted with the immersion oil and covered with a cover-glass for observation.

2. The NORs were always seen to be present at the secondary constrictions and at the connecting fiber of terminal trabants and of intercalary trabants.

3. The highest number of nucleoli always corresponded to the number of NORs.

## III. Relative amounts of DNA.

1. The relative amount of DNA per cell of *Se. sempervirens*, hexaploid, was the largest of all species studied, and that of *Sc. verticillata* was the second large.

2. On the relative amounts of DNA per genome, *Sc. verticillata* possessed the largest amount, and its amount was statistically different from the amount of any other species of Taxodiaceae.

According to the karyological features and to the relative DNA amounts, the species of Taxodiaceae was divided into 8 groups: *Sc. verticillata*; *Glyptostrobus pensilis* and two species of *Taxodium*; two species of *Cryptomeria*; *Sequoiadendron giganteum*; *Se. sempervirens*; *M. glyptostroboides*; *Taiwania cryptomerioides*; two species of *Cunninghamia*.

The karyological features of *Sc. verticillata* showed marked differences from

those of the Taxodiaceae and it is therefore recommendable to recognize the establishment of the family Sciadopityaceae for the single species *Sciadopitys verticillata*.

*G. pensilis* is distributed in China and two species of *Taxodium* in the U. S. A. and Mexico, but these two genera are karyologically closely related and have similar DNA amounts. Two species of *Cunninghamia* are found in Taiwan and China and *Se. sempervirens* is found in the U. S. A. However the haploid chromosome complements of these two genera show them to be related and should be placed in the Taxodiaceae.

## 目 次

Summary .....	77
緒 論 .....	81
第 I 章 研究史 .....	82
第 1 節 スギ科の核型に関する研究史 .....	82
第 2 節 林木の染色体の分染に関する研究史 .....	85
第 II 章 研究方法 .....	87
第 1 節 研究材料とその特性 .....	87
I スギ科の分類について .....	87
II 研究材料 .....	88
III 研究材料の特性 .....	89
第 2 節 核型分析に関する研究方法 .....	95
I プレパラートの作製法 .....	95
II 染色体の測定法および供試細胞数 .....	95
III 染色体の数的表示法と染色体のタイプ分け .....	96
IV 相同染色体の決定法 .....	97
第 3 節 核小体形成部 (NOR) と核小体の分染に関する研究方法 .....	98
第 4 節 相対的 DNA 量の測定方法 .....	99
第 5 節 研究方法に関する論議 .....	99
I 核型分析に関する研究方法について .....	99
II 核小体形成部 (NOR) と核小体の分染について .....	102
III 相対的 DNA 量の測定について .....	103
第 III 章 核型分析 .....	104
第 1 節 スギ科の核型分析 .....	104
1. コウヤマキ ( <i>Sciadopitys</i> ) 属 .....	104
2. スギ ( <i>Cryptomeria</i> ) 属 .....	106
(1) スギ ( <i>Cr. japonica</i> ) .....	106
1) 2 倍体 .....	106
a) イワオスギ ( <i>Cr. japonica cv. Iwaosugi</i> ) .....	106
b) メアサ ( <i>Cr. japonica cv. Mease</i> ) .....	108
2) 3 倍体 .....	110
ウラセバルスギ ( <i>Cr. japonica cv. Urasebarusugi</i> ) .....	110

(2) 柳杉 ( <i>Cr. fortunei</i> )	112
(3) スギ属に関する考察	115
3. コウヨウザン ( <i>Cunninghamia</i> ) 属	117
(1) コウヨウザン ( <i>Cu. lanceolata</i> )	117
(2) ランダイスギ ( <i>Cu. konishii</i> )	119
(3) コウヨウザン属に関する考察	120
4. タイワンスギ ( <i>Taiwania</i> ) 属	121
5. ラクウショウ ( <i>Taxodium</i> ) 属	123
(1) ラクウショウ ( <i>Ta. distichum</i> )	123
(2) メキシコラクショウ ( <i>Ta. mucronatum</i> )	124
(3) ラクウショウ属に関する考察	126
6. スイショウ ( <i>Glyptostrobus</i> ) 属	126
7. セコイアメスギ ( <i>Sequoia</i> ) 属	128
8. セコイアオスギ ( <i>Sequoiadendron</i> ) 属	129
9. メタセコイア ( <i>Metasequoia</i> ) 属	131
第2節 スギ科以外の核型分析	133
1. イチイ ( <i>Taxaceae</i> ) 科	133
(1) イチイ ( <i>Taxus cuspidata</i> )	133
(2) カヤ ( <i>Torreya nucifera</i> )	135
(3) イチイ科に関する考察	136
2. ナンヨウスギ ( <i>Araucariaceae</i> ) 科	136
3. ヒノキ ( <i>Cupressaceae</i> ) 科	138
第3節 核型分析に関する考察	140
1. スギ科について	140
2. スギ科以外の樹種について	143
3. 核型分析のまとめ	144
第IV章 核小体形成部 (NOR) および核小体の分染	146
第1節 スギ科のNORと核小体	146
1. コウヤマキ属	146
2. スギ属	147
3. コウヨウザン属	149
4. タイワンスギ属	150
5. ラクウショウ属	150
6. スイショウ属	151
7. セコイアメスギ属	151
8. セコイアオスギ属	152
9. メタセコイア属	152
第2節 スギ科以外のNORと核小体	153
1. イチイ科	153
2. ナンヨウスギ科	154
3. ヒノキ科	154
第3節 NORと核小体に関する考察	155
第V章 相対的DNA量の測定	156

1. 相対的DNA量の測定結果	156
2. 相対的DNA量に関する考察	158
第VI章 総合考察	159
1. 核型とNORおよび核小体について	159
2. 核型と相対的DNA量について	160
3. 核型からみたスギ科の種の分化と類縁について	163
4. 林木育種での核型の利用と今後の課題	165
摘要	166
引用文献	167

## 緒 論

近年、特に1970年代中・後半から、組換えDNA、大量組織培養、胚移植や細胞融合など、いわゆるバイオテクノロジーは、めざましい進展をみせており、医学、薬学、水産学、農学はじめ種々の学問分野に大きな影響を及ぼしてきている。

林学（林業学）においても例外ではなく、これまでの林木育種は主として選抜育種、交雑育種、導入育種などを中心に展開されてきたが、最近では、組織培養、細胞融合などのバイオテクノロジーが導入、利用されはじめてきている。このことは、極めて近い将来、大量組織培養、細胞融合、半数体育成などを利用した、従来とは違う新しい林木育種が推し進められる前触れといえる。すなわち、現在、さし木あるいはつぎ木によっている精英樹の増殖は大量組織培養で行われ、精英樹の選抜あるいは抵抗性個体の選抜は、組換えDNAによって必要とされる遺伝情報をもった個体の創出に置き換えられることになる。また、これまで交雑可能な近縁種のみに限定されていた林木の交雑は、細胞融合を利用した体細胞雑種の作出により交雑が不可能であった組合せの種間や属間についての雑種の作出も行われることになる。

言うまでもなく、バイオテクノロジーが万能でないことは自明のことであるが、その積極的な利用により、従来とは違った新しい林木育種に取り組みなければならない状況の下で、種の類縁関係をもう一度見直すこと、整理し直しておくことは現在の林木育種にとっては無論のこと、今後の新しい林木育種にとっても極めて重要な課題と考えられる。

わが国の林業にとって数多くの重要な造林樹種があるが、その中でもスギ科スギ属のスギ (*Cryptomeria japonica*) は、特に重要な造林樹種であり、しかもわが国固有種で1属1種と考えられてきた。しかし、1974年に中国から柳杉 (*Cryptomeria fortunei*) が報告され<sup>22)</sup>、スギ属は2種ではないかという問題が提起された。

また、同じスギ科 (Taxodiaceae) の中では、1946年にそれまで化石植物としての存在しか知られていなかったメタセコイア (*Metasequoia*) 属のメタセコイア (*Metasequoia glyptostroboides*) が中国の四川省で発見されたこと<sup>89)</sup>、現在セコイアオスギ (*Sequoiadendron*) 属として1属1種に分類されているセコイアオスギ (*Sequoiadendron giganteum*) がセコイアメスギ (*Sequoia sempervirens*) と同属に分類され、*Sequoia gigantea* と命名されていたこともある<sup>10)</sup>。また、コウヤマキ (*Sciadopitys verticillata*) の分類については、現在もなお議論のあるところで、分類学者によってはコウヤマキ科 (*Sciadopityaceae*) として分類したり<sup>34, 163)</sup>、スギ科に含めたコウヤマキ属として分類されたりしている<sup>31, 98)</sup>。このわが国林業にとって極めて重要な樹種であるスギが属するスギ科は、コウヤマキを含めてもわずか10属16種（後述）であり、同じ球果植物の中でもマツ科の10属210種あるいはヒノキ科の21属140種<sup>30)</sup>などと比べると種数は極めて少ない。しかし、単に林業的に有用であるのみならず、前述のコウヤマキばかりか、現在属のレベルに分類されているものすべてを科のレベルに分類すべきとの提案<sup>35, 36)</sup>がなされたこともあり、分類学的にみても興味をもたれる科である。このスギ科に関するこれま

での核型あるいは細胞遺伝学的研究は個々の、ないし2、3の種あるいは属を対象としており、体系的あるいは系統的に、この科全体を取り扱った研究はほとんど行われていない。

本研究は、スギ科を対象とし、この科と比較的近縁と考えられるいくつかの球果植物をも含めて、核型からみたスギ科の分類学的位置付けを明らかにするとともに、核型による種の識別と種の類縁関係の解析を試みようとするものである。このことにより従来からの林木育種のみならず、近い将来の新しい林木育種にとっても極めて有用な基礎的資料が得られるものと考えられる。

本研究を遂行するにあたり九州大学宮島 寛名誉教授、故九州大学須崎民雄教授には懇切な御指導と御助言、言葉に言い尽くせないほどの激励を賜った。とりまとめにあたり、九州大学大村 武名誉教授には適切な御助言と御校閲を頂いた。深甚なる謝意を表する。

九州大学農学部矢幡 久助教授、宮崎大学中尾登志雄助教授には種々の便宜をお計り頂き、有益な御助言を賜った。心からお礼を申し上げる。

また、種々の御指導と激励を賜った東京農工大学川名 明名誉教授（現東京農業大学教授）、東京農工大学相場芳憲教授、有益な御助言と激励を賜った琉球大学中須賀常雄助教授、大宜見朝栄教授、山盛直教授、篠原武夫教授、佐藤一紘助教授をはじめとする多くの皆様方に感謝の意を表する。

なお、本研究は、1985年10月までにまとめたものであるが、印刷が諸般の事情で今日となってしまい、しかも印刷ページの都合上、その一部を割愛した。

## 第I章 研究史

本章では、スギ科の染色体および核型に関するこれまでの研究の経過を明らかにすることを目的とする。なお、スギ科の分類については、研究者により異なっているので、本論でのスギ科は後述（第II章）のように10属16種とした。

### 第1節 スギ科の核型に関する研究史

スギ科の多くは林業的にみて重要にもかかわらず、この科を対象とした核型ないし染色体に関するこれまでの研究は、個々のあるいは2、3の種、属を対象としたものが多く、体系的にこの科全体を対象としたものはほとんどないといえる。これまでのスギ科の核型、染色体に関する研究を、年代順にならべるとTable 1・Aのようになる。

Table 1・A (1). List of chromosomal studies of Taxodiaceae

Year	Species name	Researcher	Chromosome number	Remarks
1903	<i>Taxodium distichum</i>	Coker, W.C.	probably $n=11$ or $12$	PMC meiosis
1904	<i>Cryptomeria japonica</i>	Lowson, A.A.	$n=9$ or $10, 2n=18$ or $20$	Mitosis in sporophyte and gametophyte
1904	<i>Sequoia sempervirens</i>	Lowson, A.A.	$n=16$ or $32$	Mitosis in sporophyte and gametophyte
1910	<i>Sciadopitys verticillata</i>	Lowson, A.A.	$n=8, 2n=16$	Mitosis in sporophyte and gametophyte
1920	<i>Sequoiadendron giganteum</i>	Goodspeed, T.H.	$2n=21-24$	Somatic mitosis
1930	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sato, K.	$n=12, 2n=24$	PMC and somatic mitosis of 'Yoshinosugi' and 'Akitasugi'
1932	<i>Cryptomeria japonica</i>	Dark, S.O.S.	$2n=24$	Somatic mitosis
	<i>Sequoia sempervirens</i>		$2n=ca.50$	Somatic mitosis
1933	<i>Cryptomeria japonica</i>	Matsumoto, K.	$n=11, 2n=22$	PMC meiosis and somatic mitosis
	<i>Taiwania cryptomerioides</i>		$2n=22$	Somatic mitosis

Table 1·A (2). List of chromosomal studies of Taxodiaceae

Year	Species name	Researcher	Chromosome number	Remarks
1933	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sax, K. <i>et al.</i>	2n=22	Somatic chromosome count in endosperm
	<i>Sequoia sempervirens</i>		2n>40	Somatic mitosis
	<i>Taiwania cryptomerioides</i>		2n=22	Somatic mitosis
	<i>Taxodium distichum</i>		2n=22	Somatic mitosis
1937	<i>Sciadopitys verticillata</i>	Tahara, M.	n=10	Mitotic metaphase in the female gametophyte
1939	<i>Sequoiadendron giganteum</i>	Buchholz, J.T.	n=11	Mitotic metaphases in the female gametophyte
1940	<i>Sciadopitys verticillata</i>	Tahara, M.	n=10	PMC meiosis
1941	<i>Cunninghamia lanceolata</i>	Sugihara, Y.	n=11	PMC meiosis
1941	<i>Sequoiadendron giganteum</i>	Jensen, H. <i>et al.</i>	2n=44	Colchicine-induced tetraploid
1942	<i>Sciadopitys verticillata</i>	Hirayosi, I. <i>et al.</i>	n=10, 2n=20	PMC meiosis
1943	<i>Sequoia sempervirens</i>	Hirayoshi, I. <i>et al.</i>	2n=66 (calculated from PMC numbers)	PMC meiosis
1947	<i>Cryptomeria japonica</i>	Jinnai, I.	2n=44	Colchicine-induced tetraploid
1948	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	Stebbins, G.L. Jr.	2n=22	Somatic mitosis
	<i>Sequoia sempervirens</i>		n=33, 2n=66	PMC meiosis and somatic mitosis
	<i>Taxodium distichum</i>		2n=22	Somatic mitosis in shoot meristem
1951	<i>Cryptomeria japonica</i>	Jinnai, I. <i>et al.</i>	2n=44	Somatic mitosis on tetraploid
	<i>Cryptomeria japonica</i>	Chiba, S.	2n=22, 33, 44	Somatic mitosis on diploid, triploid and tetraploid in a nursery
1952	<i>Athrotaxis cupressoides</i>	Gulline, H.F.	n=11, 2n=22	PMC meiosis and somatic mitosis
	<i>Athrotaxis taxifolia</i>		n=11, 2n=22	PMC meiosis and somatic mitosis
	<i>Athrotaxis selaginoides</i>		n=11, 2n=22	PMC meiosis and somatic mitosis
1956	<i>Cryptomeria japonica</i>	Shibata, K. <i>et al.</i>	2n=22	Somatic mitosis
1956	<i>Cryptomeria japonica</i>	Mehra, P.N. <i>et al.</i>	2n=22	Somatic mitosis; two pairs with inconspicuous secondary constriction
	<i>Cunninghamia lanceolata</i>		2n=22	Somatic mitosis; 2 chromosomes with secondary constriction, 2 others with tandem satellite
	<i>Taxodium mucronatum</i>		2n=22	Somatic mitosis; 2 chromosomes with secondary constriction
1968	<i>Sequoia sempervirens</i>	Fozdar, B.S. <i>et al.</i>	2n=66	Somatic mitosis
1969	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	Kuroki, Y. <i>et al.</i>	2n=22	Somatic mitosis
1970	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	Kuroki, Y. <i>et al.</i>	2n=22	Somatic mitosis
	<i>Sequoiadendron giganteum</i>		2n=22	Somatic mitosis
1970	<i>Sequoia sempervirens</i>	Saylar, L.C. <i>et al.</i>	2n=66	Somatic mitosis; three pairs with accessory and 6 nucleoli in resting stage
1975	<i>Sequoiadendron giganteum</i>	Schlarbaum, S.E. <i>et al.</i>	2n=22	Somatic mitosis; one pair with peculiar proximal region
1976	<i>Sciadopitys verticillata</i>	Schlarbaum, S.E. <i>et al.</i>	2n=20	Somatic mitosis; one pair with satellite
1977	<i>Cryptomeria japonica</i>	Matsuda, K. <i>et al.</i>	2n=22, 2n=33	Somatic mitosis on triploids (Hinodesugi, Urusebarusugi) and diploid (Kumotooshi)
1977	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=33	Triploid (Urusebarusugi)
1978	<i>Cryptomeria japonica</i>	Matsuda, K. <i>et al.</i>	2n=22, 2n=33	Triploid (Hinodesugi), and chromosomal segregation on hybrids of the triploid × diploids
1979	<i>Cryptomeria japonica</i> and several species	Hizume, M. <i>et al.</i>	-----	Numbers of nucleoli
1979	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, Y. <i>et al.</i>	2n=22	Somatic mitosis on 'Kumotooshi'
1979	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Somatic mitosis on 5 cultivars
1979	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Somatic mitosis on 4 cultivars and 1 plus tree
1979	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Somatic mitosis on 4 cultivars and 2 plus tree
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Mori, S. <i>et al.</i>		PMC meiosis on the plus tree 'Tateyama-5'
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki <i>et al.</i>	2n=22	Somatic mitosis on 2 cultivars
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki <i>et al.</i>	2n=22	Chromosomal variations on 5 cultivars



Table 1·A (3). List of chromosomal studies of Taxodiaceae

Year	Species name	Researcher	Chromosome number	Remarks
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Somego, M.	2n=22	Chromosomal variations on cultivars
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Somatic mitosis on 'Yabukuguri'
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Somatic mitosis on 3 cultivars
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Somatic mitosis on 'Mejirosugi'
1980	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=33	Somatic mitosis on 1 triploid 'Urasebarusugi'
1980	<i>Cunninghamia lanceolata</i>	Han, Y.F. et al.	2n=22	Somatic mitosis
1981	<i>Cryptomeria japonica</i>	Mori, S. et al.	2n=22	Somatic mitosis; Giemsa banded technique
1981	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, et al.	2n=33	Somatic mitosis on 2 triploids (Hinodesugi, Urasebarusugi)
1981	<i>Cryptomeria japonica</i>	Schlarbaum, S.E. et al.	2n=22	Differential staining; one pair with specific region
1981	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	PMC meiosis and somatic mitosis; 4 cultivars and 1 plus tree
1981	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Somatic mitosis; low temperature treatment
1982	<i>Cryptomeria japonica</i>	Itoh, S. et al.	2n=33	Somatic mitosis on 2 triploid plus trees
1982	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, Y. et al.	2n=33	Somatic mitosis on 6 triploid plus trees
1982	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, Y. et al.	2n=44	Somatic mitosis on 1 tetraploid
1982	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22	Meiotic and somatic mitosis on 'Iwaosugi'
1983	<i>Cryptomeria fortunei</i>	Somego, M. et al.	2n=22	Somatic mitosis
1983	<i>Cryptomeria fortunei</i>	Toda, Y. et al.	2n=22	Somatic mitosis
1983	<i>Cryptomeria fortunei</i>	Toda, Y. et al.	2n=22	Somatic mitosis
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Kondo, T. et al.	-----	Numbers of nucleoli on 3 plus trees and their hybrids
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, Y.	2n=22, 2n=33	Somatic mitosis on 98 plus trees
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, Y. et al.	2n=22, 2n=33	Somatic mitosis on 88 plus trees
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, Y. et al.	2n=22, 2n=33	Somatic mitosis on 3 triploids and 7 diploids
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Sasaki, Y. et al.	2n=22, 2n=33	Somatic mitosis on a hybrid 'Hinodesugi' × plus tree 'Saeki-1'
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Somego, M. et al.	2n=22	Segregation on No.6 chromosome in the selfing of plus tree 'Saga-3'
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Toda, Y.	2n=22, 2n=23, 2n=33	Somatic mitosis on 1 triploid (Hinode), 1 diploid and their hybrids
1983	<i>Cryptomeria japonica</i>	Baba, S.	2n=22	Somatic mitosis; 1 pair with long constricted proximal region
	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>		2n=22	Somatic mitosis; more than 2 pairs with long constricted proximal region
	<i>Sequoiadendron giganteum</i>		2n=22	Somatic mitosis; 1 pair with long constricted proximal region
1983	<i>Taiwania cryptomerioides</i>	Baba, S.	2n=22	Somatic mitosis; 1 pair with long constricted proximal region
	<i>Taxodium distichum</i>		2n=22	Somatic mitosis; 1 pair with long constricted proximal region
	<i>Taxodium distichum</i>		2n=33	Somatic mitosis on triploid; 1 pair with long constricted proximal region
1984	<i>Cunninghamia lanceolata</i>	Han, Y.F. et al.	2n=22	Somatic mitosis
1984	<i>Glyptostrobus pensilis</i>	Baba, S.	2n=22	Somatic mitosis; numbers of NORs and nucleoli
	<i>Taxodium distichum</i>		2n=22	Somatic mitosis; numbers of NORs and nucleoli
	<i>Taxodium mucronatum</i>		2n=33	Somatic mitosis on triploid; numbers of NORs and nucleoli

## PMC, pollen mother cell

スギ科の染色体数が論文に発表されはじめたのは、今世紀初頭の1903年、Cokerのラクウショウ<sup>14,15)</sup>と1904年、Lawsonによるスギとセコイアメスギについてであろう<sup>74,75)</sup>。1910年代と1920年代は極めて研究が少ないが、1930年代に入ると松本<sup>86)</sup>、Sax<sup>111)</sup>によりスギやタイワンスギなどの染色体数が明らか

になりはじめた。しかし、セコイアメスギの染色体数はその数が多いこと ( $2n=66$ ) もあり、1904年の Lawson<sup>74)</sup>以来、Dark<sup>16)</sup>、Saxら<sup>111)</sup>などによって染色体数の確認が試みられていたが、1943年平吉ら<sup>40)</sup>が花粉母細胞の減数分裂から  $n=33$  ( $2n=66$ ) を報告するまで確定されなかった。明確な時代区分は難しいが、平吉ら<sup>40)</sup>の研究の前後までが主としてスギ科樹木の染色体数の記載が行われた時代と考えることができよう。しかし、その中でも、Saxら<sup>111)</sup>を中心に、単に染色体数の記載にとどまらず核型を明らかにし、種間あるいは属間の違いを核型から論じようとする研究も着実になされていた時代でもある。技術的にみると、プレパラートは切片法を主体として作製されていたが、種子の胚乳 (endosperm) 組織での染色体の観察には、今日広く用いられているおしつぶし法あるいはなすりつけ法も併用されていた。

1940年代から1950年代はじめにかけては、1930年代後半にコルヒチン (colchicine) に関する研究が進展し、その効果が確認されたこと<sup>96)</sup>による影響と考えられる倍数体の作出がスギ<sup>58)</sup>、セコイアオスギ<sup>56)</sup>などのスギ科の樹木についても行われている。したがって、この約10年間はスギ科樹木の倍数性育種、特に倍数体の作出の時代とでもいえよう。

1950、60年代そして70年代前半までは、スギ科の染色体に関する研究の数はあまり多くはない。この時代は、それ以前の時代のような単なる染色体数の記載にとどまらず、二次くびれ (二次狭窄) の報告など、より細かく染色体の観察が行われるようになってきた。また、プレパラートの作製もそれまでの切片法からおしつぶし法に主体が移ってきている。それらの研究の中で、1956年の Mehraら<sup>87)</sup>の研究は特筆すべきものである。彼らの研究はそれまで以前に報告された球果植物の染色体に関する研究をとりまとめるとともに、自らも41種 (スギ科も3種含まれる) にわたって染色体を観察し、染色体数と動原体の位置による染色体のタイプ分けを試みている。このおおよそ20数年間は Mehraら<sup>87)</sup>の研究に代表されるように、核型の記録と核型による種の識別に関する研究の時代とでもいえよう。

1970年代後半、1977年の松田・宮島<sup>82)</sup>によるスギ3倍体の報告に端を発し、わが国のスギに関する研究は一変した。それまで3倍体や4倍体は人為的に作出されるか、苗畑で発見されることがあっても、実際の造林材料として使用され、しかも林業的にも利用価値が高いとは考えられていない傾向にあった。しかし、松田・宮島<sup>82)</sup>により、このことが覆され、しかも倍数性育種の有効利用の可能性が論議されたことから、わが国では今日までスギの核型からみた種内変異やスギの倍数体に関する数多くの研究が行われている。1977年以降今日までは、わが国のスギの染色体に関しては、さしずめスギ種内変異と倍数体に関する研究の時代とでもいえよう。しかし、それらの研究とは別に、1970年代後半からはスギ科を含めて球果植物染色体の分染に関する研究 (後述) も開始されはじめ、新しい染色体の研究への歩みも着実にみられている。

以上のように、スギ科の核型あるいは染色体に関しては、数多くの研究が行われてきているが、それぞれの研究が個々の種あるいは多くて2~3の種、属にとどまっておき、体系的、系統的にスギ科全体をまとめあげた研究はこれまでに行われていない。また、今日までに、核型が明らかにされていないスギ科の樹種としてはランダイスギ、タイワンスギ、ラクウショウ、メキシコラクウショウ、ポンドサイプレス、スイショウ、タスマニアシーダー属3種などをあげることができる。したがって、極めて近い将来のバイオテクノロジーを利用した新しい林木育種の時代に備え、スギ科の核型あるいは細胞遺伝学的研究を早急にとりまとめ、種の類縁関係を整理しておくこと、核型を利用した種の識別方法を確立しておくことや染色体の分染法を利用した新しい研究に取り組むことが急務といえよう。

## 第2節 林木の染色体の分染に関する研究史

1960年代前半まで、染色体の分染といえば、ユリ科のエンレイソウ (*Trillium*) 属がその代表であった<sup>27,68)</sup>。しかし、1968年に Caspersonら<sup>12)</sup>によりQ-バンド法を用いた *Vicia faba*, *Chinese hamster*, *Trillium erectum*の染色体の分染が発表されたのをきっかけにして、G-バンド法<sup>118)</sup>、C-バンド

法<sup>133)</sup>などつぎつぎと種々の分染法が開発・利用されるようになった。その結果、多くの動・植物について数多くの分染が試みられている。このように、現在多くの動・植物で用いられている染色体の分染法は大きく次の3つに大別されるものと考えられる。すなわち、①染色体の長軸（縦軸）方向への構造を分染する方法（Q-バンド法、G-バンド法などが含まれる）、②染色体の内部的な構造（機能）を分染する方法（C-バンド法、N-バンド法などが含まれる）、③姉妹染色分体（sister chromatid）を分染する方法である。これら3つの区分のうち①と②は厳密に区別することが困難な場合もあるが、③は姉妹染色分体を分染することから、明らかに前2者とは異なった分染法といえる。染色体の分染法のなかで長軸方向への構造を分染することは、まず第一に個々の染色体の識別を容易にする。また、分染された分節構造（segmental structure）によって、染色体の転座、逆位、欠失や挿入などの染色体の構造変化を容易に認識させ、分節構造の違いによる種内変異の解析や種間、属間などの識別と類縁関係の研究にも発展させることが可能である。もう1つの方法である染色体の機能を分染する方法は、染色体上の構成的異質染色質（constitutive heterochromatin）や核小体形成部（nucleolar organizing region 以下NORと略記）を特異的に分染する方法で、これまでははっきりとは認識できなかった染色体の機能的な部位を明らかにすることに主眼がおかれている。また、それらの部位の位置や数に基づき、長軸方向への分節構造の分染同様、種・属間の違いあるいは種内変異などを明らかにできる可能性も合わせてもっている。

以上のように染色体を分染することは、従来からの核型分析とは異なる新しい染色体に関する研究を進展させる可能性をもっているが、スギ科を含めて林木の染色体の分染に関する研究はTable 1・Bに

Table 1・B List of chromosomal bandings of Taxodiaceae and other conifers

Year	Name of banding technique	Researcher	Species name	Remarks
1977	Giemsa staining	K.-Ahvenniemi, S. et al.	<i>Pinus sylvestris</i>	
1978	C-band	Borzan, Z. et al.	<i>Pinus nigra</i>	C-band and C-bodies
1980	C-band	Tanaka, R. et al.	<i>Pinus densiflora</i> <i>Cycas revoluta</i> <i>Ginkgo biloba</i>	C-band and C-bodies
1981	C-band	MacPherson, P. et al.	<i>Pinus koraiensis</i> <i>Pinus strobus</i> <i>Pinus resinosa</i> <i>Pinus nigra</i> <i>Pinus banksiana</i>	Cold treated secondary constrictions and C-band
1981	Giemsa staining	Mori, S. et al.	<i>Cryptomeria japonica</i>	
1981	Low temperature treatment	Toda, Y.	<i>Cryptomeria japonica</i>	Segmental structure
1981	Differential staining	Schlarbaum, S.E. et al.	<i>Cryptomeria japonica</i>	Segmental structure
1982	Fluorescent staining, R-band and C-band	Kondo, T. et al.	<i>Cryptomeria japonica</i>	
1983	Ag-I staining	Baba, S.	<i>Sequoiadendron giganteum</i>	Number of NORs and nucleolus
1983	Fluorescent staining and R-band	Hizume, M. et al.	<i>Pinus nigra</i>	
1984	Ag-I staining	Baba, S. et al.	<i>Glyptostrobus pensilis</i> <i>Taxodium distichum</i> <i>Taxodium mucronatum</i>	Number of NORs and nucleolus
1984	Ag-As staining	Cardemil, L.E. et al.	<i>Araucaria angustifolia</i>	NOR staining
1985	Ag-I staining	Baba, S.	<i>Cryptomeria japonica</i> <i>Cryptomeria fortunei</i> <i>Cunninghamia lanceolata</i> <i>Cunninghamia konishii</i>	Number of NORs and nucleolus
1985	Ag-I staining	Baba, S.	<i>Cryptomeria japonica</i> <i>Cryptomeria fortunei</i>	Number of NORs and nucleolus

NORs, nucleolar organizing regions

示したように、これまでにわずかし報告されていない。したがって、ここではスギ科の染色体分染を中心に、範囲を広げてスギ科以外の林木（針葉樹）の染色体の分染についても合わせて述べることにする。

林木での染色体の分染がはじめて報告されたのは、比較的新しく1977年、K.-Ahvenniemiら<sup>67)</sup>による *Pinus sylvestris* についてである。この研究は、それまで林木の染色体の染色にほとんど用いられていなかったギムザ（Giemsa）染色液を用いていたが、本質的には従来の染色法と大きな違いはなかった。しかし、林木でも染色体の分染がある程度可能であることを初めて示唆した点で大きな意味があったと考えられる。ついで1978年、Borzanら<sup>7)</sup>により *Pinus nigra* のC-バンド（C-band）と間期核のC-ボディ（C-body）が報告された。1970年代は、わずかにこれら2つの研究のみであった。1980年代に入っても、染色体の分染に関する研究の数は多いとはいえないが、林木を含めた裸子植物についての分染も盛んに試みられるようになってきている。

スギ科に関する染色体分染の最初の報告は、1981年に報告されている。森ら<sup>92)</sup>はスギのギムザ染色を試み、戸田<sup>157)</sup>はスギの低温分節の分染を、Schlarbaumら<sup>116)</sup>はスギのフォイルゲン（Feulgen）染色を利用した分染を試みている。しかしながら、いずれの報告とも必ずしも十分な成果をあげられず、分染の可能性を示唆する段階にとどまっていた。翌1982年、Kondoら<sup>66)</sup>が、初めてスギ染色体の分染（2種類の蛍光バンド）に成功した。ついで1983年と1984年に馬場ら<sup>3,4)</sup>は *Sequoiadendron giganteum* はじめ数種のスギ科のNORの分染に成功した。しかし、Table 1・Bからも明らかなように、スギ科を含めた林木の染色体の分染は、まだその研究の緒についたばかりの状況にあり、今後さらに数多くの試みが期待される場所である。

## 第Ⅱ章 研究方法

本章では、まず最初に、本研究に用いた研究材料とその特性について、次いで研究方法について述べる。

### 第1節 研究材料とその特性

#### I スギ科の分類について

スギ科の分類については現在もなおコウヤマキの取り扱い、あるいは個々の種の取り扱いについて、分類学者により多少とも議論の余地がある。そこで、まずはじめに本論でのスギ科の取り扱いを明らかにしておく。

コウヤマキの分類については、コウヤマキ科に分類する研究者もいるが<sup>34,163)</sup>、本研究では大井<sup>98)</sup>に基づきスギ科に含めることにした。しかし、大井<sup>98)</sup>には邦産の樹種であるコウヤマキとスギの2種のみ記載しかないので、それ以外の樹種（柳杉を除く）の分類とその配列については上原<sup>163)</sup>に基づいた。中国に自生しているスギ属の柳杉（*Cryptomeria fortunei*）については、鄭ら<sup>167)</sup>に基づきスギ（*Cr. japonica*）とは別種とし、スギの後に配列した。なお、上原<sup>163)</sup>ではコウヤマキをコウヤマキ科（*Sciadopityaceae*）に分類しスギ科の前に位置づけているが、この種については大井<sup>98)</sup>の分類に基づいたのでコウヤマキ属としてスギ属の前に配列した。ラクウショウ（*Taxodium*）属は従来3種とされていたが、近年は2種と分類することもある<sup>30)</sup>。本研究ではラクウショウ属の分類については、従来通り3種と考えた。したがって、本論でのスギ科は10属16種となり、その種名と配列はTable 2に示したようになる。

Table 2. Species name of Taxodiaceae\*

Species name	Distributions
<i>Sciadopitys verticillata</i> Sieb. et Zucc.	Japan
<i>Cryptomeria japonica</i> D. Don	Japan
<i>Cryptomeria fortunei</i> Hooib. ex Otto et Dietr.	China
<i>Cunninghamia lanceolata</i> Hook.	China.Taiwan
<i>Cunninghamia konishii</i> Hayata	Taiwan
<i>Taiwania cryptomerioides</i> Hayata	China.Taiwan
<i>Taxodium distichum</i> Rich.	U.S.A.
<i>Taxodium mucronatum</i> Tenore	U.S.A.,Mexico
<i>Taxodium ascendens</i> Brongn.	U.S.A.
<i>Glyptostrobus pensilis</i> K. Koch	China
<i>Sequoia sempervirens</i> Endl.	U.S.A.
<i>Sequoiadendron giganteum</i> Lindl.	U.S.A.
<i>Metasequoia glyptostroboides</i> Hu et Cheng	China
<i>Athrotaxis cupressoides</i> D. Don	Tasmania
<i>Athrotaxis taxifolia</i> Hook.	Tasmania
<i>Athrotaxis selaginoides</i> D. Don	Tasmania

\* Cited from Uehara<sup>163)</sup>, Hayashi<sup>34)</sup>, Ohwi<sup>98)</sup> and Zheng *et al*<sup>167)</sup>.

また、外国産のスギ科樹木の樹種名（和名）については、上原<sup>163)</sup>、林<sup>34)</sup>、杉本<sup>132)</sup>など研究者により異なっているので、ここでは上原<sup>163)</sup>に基づいた和名を用いることにした。柳杉の和名について、佐竹ら<sup>109)</sup>はシナスギを用いているが、古越<sup>22,23)</sup>、染郷<sup>128)</sup>、戸田ら<sup>160,161)</sup>は柳杉をそのまま用いている。柳杉の名称はかならずしも和名とはいいい難いが、後者らのように林学関係者では慣例的に柳杉を用いる場合が多いので、ここでもそのまま柳杉を用いることにした。

## II 研究材料

スギ科樹木10属16種のうち、本研究で用いた樹種はオーストラリアのタスマニア (Tasmania) 島にのみ分布しているタスマニアシーダー属の3種とアメリカ東部および東南部に分布しているラクウショウ属のポンドサイプレスを除く9属12種である。タスマニアシーダー属3種はわが国に導入、生育しているとの報告がないことから、3種のうち2種 (*Athrotaxis cupressoides*, *A. taxifolia*) の種子をタスマニア存在のW. Hart氏から提供を受けた。しかし、ほとんど大部分がしいなであったため、供試個体を育成することができなかった。ポンドサイプレス (*Taxodium ascendens*) の種子はアメリカ在住のDr. R. B. Channell氏、Dr. V. G. Soukup氏およびU. S. Forest Tree Seed Centerなどに種々の御協力を頂いたが、アメリカ国内からは入手できず、農林水産省林業試験場浅川実験林から挿穂の提供を受けた。しかし、極めて挿木が難しくタスマニアシーダー属の2種と同様に供試個体を育成することができなかった。したがって、それら4種のスギ科樹木は、本研究に用いることができなかった。また、スギ科の核型の特徴を明らかにするため、分類学的にスギ科と同じショウハク (球果植物) 綱ショウハク目に位置づけられているナンヨウスギ科から1種とヒノキ科から2種、イチイ目のイチイ科から2種の計5種も合わせて研究材料とした。本研究の全供試樹種とその採種地あるいは提供先はTable 3に示した通りである。

なお、スギの種内には数多くの林業的あるいは園芸的品種が知られており<sup>54,90,163)</sup>、1品種だけではスギそのものを代表できないおそれがあることも考えられたので、3倍体としてウラセバルスギ<sup>82)</sup>と、2倍体としてイワオスギ、メアサの計3品種を用いた。柳杉については、スギから独立させ種 (*Cryptomeria fortunei*) として報告されたことが新しいことから<sup>22)</sup>、スギの品種同様に1産地のもの

Table 3. Species name and supplier of materials

Species name	Material	Supplier
<i>Sciadopitys verticillata</i>	seedlings	Kyushu Forest Tree Breeding Inst., Kumamoto
<i>Cryptomeria japonica cv. Iwaosugi</i>	cuttings	Kasuya Univ. Forest of Kyushu Univ., Fukuoka
<i>Cr. japonica cv. Measa</i>	cuttings	Kasuya Univ. Forest of Kyushu Univ., Fukuoka
<i>Cr. japonica cv. Urasebarusugi</i>	cuttings	Kasuya Univ. Forest of Kyushu Univ., Fukuoka
<i>Cr. fortunei</i> from Jiang xi	seedlings	Silviculture Lab. Kyushu University, Fukuoka
<i>Cr. fortunei</i> from Zhe jiang	seedlings	Silviculture Lab. Kyushu University, Fukuoka
<i>Cunninghamia lanceolata</i>	seedlings	National Chung Hsing University, Taiwan
<i>Cu. konishii</i>	seedlings	National Chung Hsing University, Taiwan
<i>Taiwania cryptomerioides</i>	seedlings	Univ. of the Ryukyus, Okinawa
<i>Taxodium distichum</i>	seedlings	U.S. Forest Tree Seed Center, U.S.A.
<i>Ta. mucronatum</i>	seedlings	U.S. Forest Tree Seed Center, U.S.A.
<i>Glyptostrobus pensilis</i>	cuttings	Okinawa city, Okinawa
<i>Sequoia sempervirens</i>	seedlings	U.S. Forest Tree Seed Center, U.S.A.
<i>Sequoiadendron giganteum</i>	seedlings	U.S. Forest Tree Seed Center, U.S.A.
<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	cuttings	Tokyo Univ. of Agr. & Tech., Tokyo
<i>Taxus cuspidata</i>	seedlings	Hokkaido Branch, For. & For. Pro. Res. Inst., Hokkaido
<i>Torreya nucifera</i>	seedlings	Silviculture Lab. Kyushu University, Fukuoka
	seedlings	Miyazaki University, Miyazaki
<i>Araucaria angustifolia</i>	seedlings	Kasuya Univ. Forest of Kyushu Univ., Fukuoka
<i>Chamaecyparis obtusa</i>	seedlings	Saitama Forest Experimental Station, Saitama
<i>Ch. pisifera</i>	seedlings	Saitama Forest Experimental Station, Saitama

では柳杉を代表できないおそれがあると考え、浙江省、江西省の2産地のものを用いた。また、種子提供のものについては、播種・育苗した実生苗（1～3年生）を用い、発芽直後の幼植物は、なんらかの異常があっても正常な個体と区別できないおそれがあることから本研究では用いることをさしひかえた。

なお、全供試樹種のうちサワラ（*Chamaecyparis pisifera*）については、第V章（相対的DNA量）についてのみ用い、第III章（核型分析）と第IV章（NORと核小体の分染）では用いることができなかった。第V章には全樹種は供試できず、Table 4に示したようにサワラを含めた13種を用いた。

### III 研究材料の特性

本研究に用いた9属12種のスギ科とスギ科以外の3科5種の球果植物の天然分布および地史的分布と主要な用途は以下の通りである。なお、記載にあたって、スギ科については属を単位にまとめ、スギ科以外の供試樹種は3科にまたがっているので科を単位にとりまとめた。

#### 1. コウヤマキ (*Sciadopitys*) 属

コウヤマキ属はコウヤマキ（*Sciadopitys verticillata*）1種から構成され、わが国固有の樹高40m、胸高直径1mに達する常緑の高木である<sup>65)</sup>。その天然分布の北限は福島県の九才峠および安座山のおお

Table 4. Materials used for measurements of relative DNA amounts in Section V

Family name	Species name
Taxodiaceae	<i>Sciadopitys verticillata</i>
	<i>Cryptomeria japonica cv. Measa</i>
	<i>Cunninghamia lanceolata</i>
	<i>Cu. konishii</i>
	<i>Glyptostrobus pensilis</i>
	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>
	<i>Sequoia sempervirens</i>
	<i>Sequoiadendron giganteum</i>
	<i>Taiwania cryptomerioides</i>
	<i>Taxodium distichum</i>
	<i>Ta. mucronatum</i>
Cupressaceae	<i>Chamaecyparis obtusa</i>
	<i>Ch. pisifera</i>

よそ北緯 $37^{\circ} 37'$ であり、関東地方にはなく、中部地方、近畿地方、中国地方、四国地方を経て九州地方におよび、南限は宮崎県の三財川流域山地おおよそ北緯 $35^{\circ} 05'$ である<sup>32)</sup>。材は建築材、器具材、土木用材、船舶材として用いられ、樹皮は「まきはだ」といい、船、桶などの漏水をふさぐのに使われる<sup>34)</sup>。沖縄では古くから木棺材としても利用され、シロアリに対する抗蟻性成分が含まれていることも知られている<sup>166)</sup>。また、本樹種はアロウカリア (*Araucaria*)、ヒマラヤシーダー (*Cedrus*) とならんで世界の三大公園樹と賞賛されるほど樹形が美しく、広く庭園などに植栽される<sup>163)</sup>。

本属はわが国固有であるが、化石植物としては東イングランド、ヨークシャ地方の中生代ジュラ中期の地層、ノルウェー北部のジュラ後期の地層などからの産出が知られる。しかしながら、これらの中には厳密にコウヤマキ属ではなく、現存しない近縁の *Sciadopityes* 属のものもあるとされている。明らかにコウヤマキ属と確認されるものは、バフィン (Baffin) 島東岸沿いのパドロピング (Padoloping) 島、グリーンランド西部、ウラル地方東部、北海道などのものが最も古く、いずれも中生代白亜紀の地層から産出する。また、それら化石植物の産出からみると、新生代古第三紀にはヨーロッパ大陸に広く分布していたが、新第三紀には分布が不連続化をはじめ、新第三紀末期の鮮新世には中部ヨーロッパと日本列島に分布が限られている。第四紀はじめ以降には、ほぼ現在の分布域である日本列島にしか分布が知られていない<sup>19, 42)</sup>。

## 2. スギ (*Cryptomeria*) 属

本属は、日本固有種のスギ (*Cryptomeria japonica*) 1種と考えられていたが、1974年に中国から柳杉 (*Cr. fortunei*) が報告されてから<sup>22)</sup>、2種から構成されるのではとの議論が行われるようになった。ここでは、前述のようにスギと柳杉の2種を別種として扱うこととする。

スギは、わが国固有で、しかも極めて重要な造林樹種である。常緑の高木で樹高30~40m、胸高直径2m内外に達するが、ときには樹高50m、胸高直径4mに達する<sup>65)</sup>。天然分布は、北海道を除く、本州、四国、九州であり、北限は青森県西津軽郡の矢倉山おおよそ北緯 $40^{\circ} 42'$ で、南限は鹿児島県の屋久島おおよそ北緯 $30^{\circ} 15'$ である<sup>32)</sup>。材の用途は広く、建築材、器具材、土木用材、船舶材などに用いられ、木は造林ばかりではなく庭園樹、盆栽、生垣としても使われる<sup>34)</sup>。林業的、園芸的に多くの品種があるが、本研究では、大分県日田市小山町三春原が原産地といわれる<sup>90)</sup>、3倍体のウラセバルスギと、九州中・南部一帯に広く分布しているメアサ、佐賀県一円に分布しているイワオスギの3品種を用いた。

柳杉は中国の揚子江以南、広東、広西、雲南、貴州、四川省などに分布しており、浙江省天目山、江西省廬山、雲南省昆明には樹齢数百年にも達する老齢木がある<sup>167)</sup>。材は、スギと同様に建築材、家具材、器具材などに用いられる。本研究では、浙江省と江西省の2産地のものを用いた。

以上のように現存するスギ属2種は日本と中国のみにしか分布していないが、化石植物の産出からみるとヨーロッパや北アメリカ大陸などでの分布も知られる。なお、本属の化石については疑問な点が多いとされているが、中生代白亜紀のものとしては北海道、古第三紀のものとしてはヨーロッパ中・北部とカナダ南西部からの産出が知られる。明らかにスギ属と確認される化石植物は、北アイルランドの古第三紀始新世とコーカサス地方の新第三紀中新世の地層のものである。新第三紀末期の鮮新世以降になると日本列島からの化石植物しか産出しないことから、この年代にはほぼ現在の分布域に近くなったと考えられている<sup>19, 42, 164)</sup>。また、中生代の化石植物には疑問が残ることから、スギ属の誕生は第三紀であり、「スギはスギ科の中でも最も耐寒性の樹種として、まさしく日本の氷期を生き残るために生まれしてきた」と解釈されることもある<sup>162)</sup>。

## 3. コウヨウザン (*Cunninghamia*) 属

コウヨウザン (*Cu. lanceolata*) は中国南部からインドシナ、台湾に分布する常緑の高木で、通常樹高10~30m、胸高直径40~50cmであるが、大きいものは樹高35m、直径1mにも達する<sup>34)</sup>。中国では杉

木と名称され、建築材、器具材、棺材、パルプ材などに利用され、白蟻の害に強いことなどもあり、中国では重要な造林樹種となっている<sup>167)</sup>。

ランゲイスギ (*Cu. konishii*) は台湾原産であり、鄭ら<sup>167)</sup>によれば中国では台湾杉木と称されている。台湾の海拔1300~2000 mに産し、樹高50 m、直径2.5 mに達する<sup>65)</sup>。耐久性に富み、建築材、船舶材、電柱などに用いられ、台湾の主要造林樹種となっている。上原<sup>163)</sup>では本樹種の学名は*Cu. Kawakamii*とされているが、北村ら<sup>65)</sup>は*Cu. Konishii*を、鄭ら<sup>167)</sup>と林<sup>34)</sup>は*Cu. konishii*としている。本研究では、林<sup>34)</sup>に基づき*Cu. konishii*を用いた。

以上のように本属の2種は中国大陸および台湾などに分布しているが、化石植物は北アメリカ大陸のオレゴン州、ヨーロッパ大陸などの新生代第三紀の地層から、また日本では第三紀末期の鮮新世の地層からの産出も知られる。第四紀はじめの更新世以降になると日本から化石植物の産出も知られていないことから、この年代にはほぼ現在の分布に近くなったと考えられている<sup>19)</sup>。

#### 4. タイワンスギ (*Taiwania*) 属

本属はタイワンスギ (*T. cryptomerioides*) 1属1種で、台湾および中国に分布し、樹高50 m、直径2.5 mに達する常緑の高木である<sup>163)</sup>。中国および台湾の主要造林樹種の一つとなっており、材は建築材、船舶材、家具材、パルプ材などに用いられる<sup>167)</sup>。

本属の現在の分布は台湾および中国のみであるが、化石植物は、スバルバード (Svalbard) 北西部、ウクライナ南部、日本などの新第三紀の地層から産出する。第四紀更新世以降には、それらの地域からの化石植物の産出が知られないことから、第四紀はじめには、ほぼ現在の分布域に近くなったと考えられている<sup>19)</sup>。

#### 5. ラクウショウ (*Taxodium*) 属

本属は、湿地、沼地、河岸などの土壤水分の多いところに生育することからヌマスギ属とも呼ばれるが<sup>65)</sup>、落葉あるいは半常緑の高木であることから落羽松 (らくうしょう) と呼ばれる。上原<sup>163)</sup>、北村ら<sup>65)</sup>では本属を*Ta. distichum*, *Ta. mucronatum*, *Ta. ascendens*の3種としているが、最近、それまで3種と分類していたHarlowら<sup>30)</sup>は2種 (*Ta. distichum*, *Ta. mucronatum*) と分類しなおし、*Ta. ascendens*は*Ta. distichum* var. *nutans*としている。本研究では前者らに従って従来通り3種と考えたが、前述のような理由で以下の2種のみしか供試できなかった。

ラクウショウ (*Ta. distichum*) の分布は、北限をアメリカ合衆国インディアナ州とし、アメリカ南東岸、メキシコ湾岸を経て、メキシコまでである<sup>163)</sup>。また、本種は樹高25~50 m、胸高直径2~3 mに達する落葉の高木であり、水中や湿地など土壤水分の多いところに生育するものは特有の板根、根張りが発達し、膝 (knee) と呼ばれる呼吸根 (気根) を出す特徴をもつ。材は建築材、器具材、土木用材、船舶材などに利用され、木は庭園、公園の池辺、川辺など土壤水分の多いところに植栽される<sup>34)</sup>。

メキシコラクウショウ (*Ta. mucronatum*) は、メキシコ南部の温帯地方 (海拔1,400~2,300 m) に分布する半常緑の高木で、大きなものは樹高50 m、胸高直径6 mにも達する。ラクウショウとは多少異なり、必ずしも湿地のような土壤水分の多いところばかりに生育するとは限らず、膝 (knee) と呼ばれる気根も生じない<sup>163)</sup>。

本属3種のうち本研究に供試した2種はいずれも北アメリカ大陸のメキシコ湾岸およびその周辺地域に分布しているが、残る1種のポンドサイプレス (*Ta. ascendens*) もアメリカ東部から東南部にのみ分布している。このように本属の現在の分布は北アメリカ大陸、しかもメキシコ湾岸周辺のみであるが、化石植物は北半球の新生代以降の地層から広く産出している。北アメリカ大陸では新生代古第三紀に現在の分布域よりも北のアラスカ南部からテキサス州およびワシントン州北部に広く分布していたが、新第三紀にはほぼ現在の分布域に近くなったと考えられている。また、ヨーロッパでも古第三紀から新



第三紀はじめまで広く分布していたが、新第三紀末期以降の地層からは化石植物が産出されなくなる。したがって、この年代にはヨーロッパから絶滅したと考えられている。本属とは近縁でメタセコイア属との中間的な特性をもつ *Parataxodium* 属（絶滅種）の化石植物が中生代白亜紀の地層から産出される<sup>19, 164</sup>。

#### 6. スイショウ (*Glyptostrobus*) 属

本属は中国固有であるスイショウ (*G. pensilis*) 1種からなり、中国東南部、福建、江西、広東省の水辺、沼沢地に分布する。落葉または半常緑の高木で、一般には樹高8~10mまれに25mに達する。ラクウショウ属と同様に膝根を出し、湿地に生育することから、水松あるいはミズスギと呼ばれる。材は腐朽に強く、建築用材、船板材などに用いられる<sup>167</sup>。琉球では栽培しているといわれている<sup>65</sup>。しかし、筆者の調査では、現在、沖縄県沖縄市美里に樹高4~5mのものがわずかに数本残っているだけであった。また、比較的容易にさし木で増やすことができた。

本属は中国固有であるが、化石植物は北半球から広く産出している。それら化石植物の産出からみると、新第三紀始新世から新第三紀鮮新世までヨーロッパ、シベリア西部、韓国、満州、日本列島、樺太などに分布していた。また、北アメリカ大陸では古第三紀漸新世から新第三紀中新世までアイダホ州、モンタナ州からオレゴン州を通りネバダ州北部、カリフォルニア州にまで分布していた。しかし、第三紀末期の鮮新世には北アメリカ大陸からは絶滅し、アジアでも第三紀末期の鮮新世から更新世には、ほぼ現在の分布域にあたる中国東南部にのみ分布しはじめたと考えられている<sup>19</sup>。

#### 7. セコイアメスギ (*Sequoia*) 属

本属は、セコイアメスギ (*S. sempervirens*) 1種からなり、アメリカ西海岸の海岸山脈に沿ったいわゆる雲霧帯 (fog belt) にのみ分布している<sup>30</sup>。時に、“the world largest tree” と呼ばれるように<sup>38</sup>、樹高115m、胸高直径9mにも達する常緑の高木である<sup>65</sup>。わが国では学名に由来したセンペルセコイアと呼んだり、英名 (Redwood) に由来したアカスギあるいはレッドウッドなどと呼ばれる<sup>163</sup>。材は優良で耐久性に強く、建築用材、土木用材、家具材に用いられる。

本属の現在の分布はアメリカ西海岸沿いのみであるが、化石植物は北半球に広く分布する。最も古い化石植物は北アメリカ中・北部、カナダ南西部、ヨーロッパ中部の中生代白亜後期の地層から産出している。化石植物の産出からみると、第三紀にはヨーロッパや北アメリカ大陸のみならず、中国西南部などにも分布していた。しかしながら、第三紀末期の鮮新世以降の地層からは、現在の分布域を除き北アメリカ大陸、ヨーロッパ、アジアでの化石植物が産出されないことから、この年代にはほぼ現在の分布に近くなったと考えられている<sup>19</sup>。

#### 8. セコイアオスギ (*Sequoiadendron*) 属

本属もセコイアメスギ属同様、セコイアオスギ (*Se. giganteum*) 1種からなる。分布はアメリカ西海岸からやや内陸に入ったシェラネバダ山脈の西側山腹である<sup>30</sup>。英名ではBigtreeあるいはGiant sequoiaと呼ばれるが、樹高では100mとセコイアメスギにはややおよばない。地上4mで直径8m、樹齢2200~2300年、ときに4000年も生きる<sup>65</sup>。Buchholz<sup>8, 9, 10</sup>が外部形態、胚形成はじめ多くの形質についてセコイアメスギとセコイアオスギの比較・検討を行い、両種をそれぞれ別属として2属に分けるまで、本種の学名は *Sequoia gigantia* とされ、セコイアメスギ属に分類されていたこともある。材はセコイアメスギよりも劣り、脆弱である<sup>163</sup>。

本属の現在の分布はアメリカ西海岸沿いのみであるが、化石植物としてはヨーロッパなどからの産出も知られる。しかし、必ずしも本属と確認できないものも多いとされている。化石植物の分布からみると、中生代白亜紀には北アメリカ大陸、ヨーロッパ中部、グリーンランド西部に分布している。第三紀

漸新世から中新世まではヨーロッパにも分布が知られるが、第三紀末期の鮮新世には、ほぼ現在の分布に近くなったと考えられている。また、化石植物は、アジアから産出していない<sup>19)</sup>。

### 9. メタセコイア (*Metasequoia*) 属

本属はメタセコイア (*M. glyptostroboides*) 1属1種である。落葉の高木で大きなものは樹高35 m、胸高直径2.3 mに達し、英名であるDawn redwoodに由来しアケボノスギと呼ばれることもある<sup>65)</sup>。1946年中国の四川省で発見されるまで、化石植物での存在しか知られていなかった<sup>89)</sup>。中国の四川省、湖北省にのみ分布するが、発見後アメリカに種子が入り、1949年にはアメリカからわが国にも種子が導入された。わが国では、良く生育し、成長も早く、しかもさし木も容易なことから、庭園樹、街路樹、記念樹などとして植栽されている。材は柔らかいが、用途は広い<sup>163)</sup>。

本属は中国固有であるが、化石植物は北半球に広く産出する。化石植物の産出からみると、中生代白亜紀には周極地方を中心にアメリカ北部、カナダ南西部、アラスカ、樺太を含む東アジアに分布していた。さらに新第三紀にはアメリカ北東部、アラスカ、グリーンランド、スバルバード、ユーラシア大陸東岸、満州、北海道などに広く分布していた。しかしながら、第三紀末期の鮮新世までには北アメリカ大陸や樺太から、第四紀はじめの更新世にはシベリア、カムチャッカ、日本などにも分布が認められなくなる。したがって、第四紀はじめには、ほぼ現在の分布に近くなったものと考えられている<sup>19, 42)</sup>。

### 10. イチイ (Taxaceae) 科

イチイ科は5属約20種<sup>30)</sup>あるいは5属約15種<sup>98)</sup>が主として北半球に分布する。本研究では、その中からわが国に分布する2種、イチイ属のイチイ (*Taxus cuspidata*) とカヤ属のカヤ (*Torreya nucifera*) を供試した。

イチイ (*T. cuspidata*) はイチイ属に属する常緑の高木で樹高10~15 m、胸高直径50~100 cmであるが、まれに樹高22 m、胸高直径2 mに達する。北海道、本州、四国、九州の亜寒帯林から温帯林に分布し、樺太、千島、アムールなどの寒帯にも分布する。わが国における分布の北限は北海道宗谷郡知来別のおおよそ北緯45° 30′、南限は鹿児島県高隈山のおおよそ北緯31° 29′である。また、材は木理通直、重硬で良質、心材は紅褐色で美しい。したがって、材は建築材、器具材、機械材、彫刻材、鉛筆材などとして用途は広く、木は寒冷な地方の庭木、生垣として賞用される<sup>34)</sup>。同属のものは北半球に8種あるが、互いに近縁で、すべてを1種とし、それぞれを亜種として区別する見解もある<sup>65)</sup>。

カヤ (*To. nucifera*) はカヤ属に属する常緑の高木で、樹高20~25 m、胸高直径80~90 cmであるが、まれに樹高36 m、胸高直径2.5 mに達する巨木もある。わが国および韓国の済州島に自生し、わが国では本州、四国、九州の暖帯林から温帯に広く見られるが、分布の北限は宮城県本吉郡谷町御岳山国有林のおおよそ北緯38° 48′であり、南限は鹿児島県の屋久島のおおよそ北緯30° 14′である<sup>33)</sup>。材は木理通直、堅硬、弾性強く加工容易で美しく、耐朽力は強い。建築材、器具材、船舶材、彫刻材などとして用いられる。木は庭園樹とする<sup>34)</sup>。同属のものは北アメリカと東アジアに7~8種ある<sup>98)</sup>。

前述のようにイチイ科は5属からなるが、本研究に供試したイチイ属、カヤ属の地史的分布を概説すると、イチイ属の化石植物は、ヨーロッパやイングランドなどのジュラ紀の地層、新生代漸新世から鮮新世の地層などから産出する。アジアでは、新第三紀の中新世から鮮新世の地層などに化石植物が産出している。中生代の化石植物がヨーロッパを中心に産出することから、本属はヨーロッパに起源し、中生代末期の白亜紀あるいは新生代古第三紀にグリーンランドやベーリング海を經由して北アメリカ大陸やアジアに移住したと考えられている<sup>19)</sup>。カヤ属のもっとも古い化石植物は、イングランド東部やバルチック海南部のボーンホルム (Bornholm) 島のジュラ中期の地層から産出している。また、現在本属が分布していないヨーロッパでも、新生代末期の鮮新世まで化石植物が産出する。しかし、ヨーロッパではこれ以降の地層からの産出は知られない。北アメリカ大陸では、白亜紀、新生代漸新世、中新世

などの地層から化石植物が産出する。日本での化石植物の産出は比較的新しく、新生代末期の鮮新世の地層からである。したがって、本属もイチイ属同様ヨーロッパ起源の植物と考えられている<sup>19)</sup>。

### 11. ナンヨウスギ (Araucariaceae) 科

ナンヨウスギ科は2属、ナンヨウスギ (*Araucaria*) 属とナギモドキ (*Agathis*) 属からなり、それぞれ約10種と約20種が主に南半球に分布している<sup>109)</sup>。本研究ではナンヨウスギ属から以下の1種のみを供試した。

ブラジルアロウカリア (*A. angustifolia*) は樹高30~60mの常緑の高木で、ブラジル南部、アルゼンチンに分布する。上原<sup>163)</sup>では学名を *A. brasiliensis* としているが、Cardemilら<sup>11)</sup>では、*A. angustifolia* を用いているので、ここでは後者に従った。

本属の現在の分布は南半球であるが、化石植物は北半球からも産出する。本属とされる化石植物の最も古いものは、インド中北部の中生代三畳紀の地層から産出している。同じく三畳紀にはグリーンランド、シベリア、北アメリカ大陸東部からの化石植物の産出も知られる。しかし、この年代には南半球からの化石植物の産出は知られていない。したがって、化石植物の産出からみると、中生代はじめには現在の分布とは逆の北半球型の分布をしていたと考えられている。南半球からの化石植物は、南アメリカやオーストラリアの中生代ジュラ紀の地層から産出されはじめる。新生代にはいると、北半球からの化石植物の産出は知られていないので、ほぼこの年代までに、現在のように南半球型の分布になったと考えられている<sup>19,47)</sup>。

### 12. ヒノキ (Cupressaceae) 科

ヒノキ科は21属140種が知られ、北半球、南半球の両方に分布する<sup>30)</sup>。わが国にはヒノキ (*Chamaecyparis*) 属、ネズコ (*Thuja*) 属、アスナロ (*Thujopsis*) 属、ビャクシン (*Juniperus*) 属の4属が知られるが、本研究では、その中でも特に林業的に重要であるヒノキ属の以下の2種を供試した。

ヒノキ (*Ch. obtusa*) は常緑の高木で、樹高30~40m、胸高直径50~150cm、大きいものは樹高50m、胸高直径2.5mに達する。本州、四国、九州に産し、天然分布の北限は福島県の永戸山および赤井岳のおおよそ北緯37° 10' であり、南限は鹿児島県屋久島の下屋久国有林のおおよそ北緯30° 15' である。材は建築材、器具材、機械材、土木用材、船舶材、彫刻材、パルプ材など広い用途に用いられる。また、樹皮は古来屋根葺材料として使われており、現在も社寺などの屋根には多く使用され「檜肌葺」の名がある。木は造林樹種として重要であるばかりではなく、庭園樹ならびに盆栽、生垣としても用いられる<sup>34)</sup>。

サワラ (*Ch. pisifera*) はわが国特産の常緑の針葉高木で、通常樹高30~40m、胸高直径80~100cm、特に大きいものは樹高50m、胸高直径1.5mにおよぶ。天然分布の北限は岩手県早池峰山西麓岳国有林のおおよそ北緯39° 32'、南限は長崎県島原半島の温泉岳のおおよそ北緯32° 48' である。材は建築材、器具材、機械材、楽器材、船舶材、彫刻材、パルプ材およびヒノキの代材などとして使用される。また、樹皮は屋根葺材料として用いられる。木は造林ばかりではなく、庭園樹、盆栽、生垣などにも用いられる<sup>34)</sup>。

本研究に供試したヒノキ属の2種は、いずれもわが国固有であるが、同属のものはアメリカ、東アジア、日本に6種知られる<sup>163)</sup>。ヒノキ科の属間の識別を行うには、果鱗などが整った標本が必要とされることから、化石植物から本属をはっきりと識別することは難しいとされている。化石植物は、北アメリカのモンタナ州、コロラド州などの第三紀漸新世やカリフォルニアの中新世の地層からの産出が知られる。北アメリカ以外では、ヨーロッパの古第三紀の地層や西シベリアの鮮新世、日本の鮮新世から第四紀更新世の地層からも化石植物の産出がみられる。また、化石植物が新生代第三紀以前の地層から産

出しないので、第三紀起源の植物と考えられている<sup>19)</sup>。

## 第2節 核型分析に関する研究方法

従来、核型は、細胞分裂の周期の中で、染色質が凝縮した状態にある分裂中期の染色体の形態と数を指し示していた。しかし、近年、Stebbins<sup>129)</sup>、田中<sup>140),141)</sup>が指摘しているように、「染色体の形態は、細胞内の生理的条件に対応しているから、必ずしも分裂中期の染色体の形態と数に限ることなく、分裂中期以外の各時期や永久組織における静止期などの染色体の形態も、核型として取り扱うことができる」とも考えられている。本論では、言葉の使い方（定義）による混乱を避けるため、前者の意味、すなわち細胞分裂中期の染色体の形態と数に対してのみに核型を用いることとした。

### I プレパラートの作製方法

核型の決定および核型分析にあたっては、染色体が適度に短縮しており、しかも適度に染色体が分散した分裂像を観察しなければならない。したがって、中期分裂像の集積と染色体を適度に短縮させる目的で、前処理が行われるが、本研究では8-hydroxyquinoline（以下、オキシキノリンと略す）を使用した。

また、プレパラートの作製には、切片法、おしつぶし法、なすりつけ法、フレイムドライ法（flame dry法；引火法）などの方法があるが、おしつぶし法を用いた。

素焼き鉢あるいはプラスチックポットにあらかじめ植栽し、十分に根を伸長させた研究材料の根端を10～15mm採取し、次のような手順でプレパラートを作製した。

- (1) 採取した根端（試料）を0.002molオキシキノリン水溶液に浸漬し、10℃ではほぼ24時間前処理
- (2) 70%エチルアルコールと酢酸（3：1）混液で、最低3時間固定
- (3) 水洗
- (4) 1規定塩酸を用い60℃で12時間、加水分解
- (5) 水洗
- (6) 無色塩基性フクシン（leuco-basic fuchsin, Schiff reagent）で3時間以上染色
- (7) 亜硫酸水に10～15分間3回浸漬
- (8) 水洗
- (9) 45%酢酸に1～2時間浸漬
- (10) 水洗

以上のように、前処理、固定、染色した試料をスライドグラス上に取り、分裂組織のみを取り出した。45%酢酸を滴下後、カバーグラスをかけ、おしつぶし法によりプレパラートを作製した。封かん剤には、市販の婦人用ネイルエナメル（無色）を用いた。

なお、染色後、ただちにプレパラートを作製しない場合には、(8)の水洗後、蒸留水に浸漬し、冷蔵庫（4～6℃）に保存した。

また、少なくとも1週間以上の期間にわたって、試料を保存する必要が生じた時には、前記(2)の固定終了後、70%エチルアルコールで数回洗浄し、酢酸を洗い流してから、70%エチルアルコールに浸漬し直し、冷蔵庫（4～6℃）に保存した。

### II 染色体の測定方法および供試細胞数

林木の染色体の測定には、顕微鏡描画装置を用いて描画したスケッチを測定する方法<sup>112)</sup>、引き伸ば

した顕微鏡写真を測定する方法<sup>71,113)</sup>、顕微鏡接眼マイクロメーターで直接測定する方法<sup>93,120)</sup>などがある。本研究に用いた樹種ごとの最長染色体の実測長は、短い場合でも10 $\mu$ 以上あり、しかも直線的であることはほとんどなく、湾曲しているものが大部分であった。したがって、接眼マイクロメーターで、染色体の長さを直接測定することは、實際上極めて困難であったので、原則的には2000倍前後に引き伸ばした顕微鏡写真を用いて染色体長を測定した。しかし、染色体同士が互いに重なり合っている場合、あるいは細胞内の全染色体が同一平面上にない場合などは、数枚の顕微鏡写真を用いても、微妙な部分が必ずしも判然としないこともあったので、このような場合には、生物顕微鏡用描画装置で約3000倍に拡大描画した詳細なスケッチを併用した。また、セコイアメスギでは2n=66と極めて染色体数が多く顕微鏡写真では染色体の長さの測定が困難であったので、上述の詳細なスケッチのみで長さの測定を行わざるを得なかった。なお、本研究の核型分析に用いた樹種ごとの細胞数は、Table 5の通りである。

Table 5. Number of cells analysed

Family name	Sp. name	Number of cells analysed
Taxodiaceae	<i>Sciadopitys verticillata</i>	11
	<i>Cryptomeria japonica</i> cv. <i>Iwaosugi</i>	8
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Measa</i>	7
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Urasebarusugi</i>	7
	<i>Cr. fortunei</i> (Zhe jiang)	8
	<i>Cr. fortunei</i> (Jiang xi)	8
	<i>Cunninghamia lanceolata</i>	13
	<i>Cu. konishii</i>	16
	<i>Taiwania cryptomerioides</i>	10
	<i>Taxodium distichum</i>	11
	<i>Ta. mucronatum</i>	12
	<i>Glyptostrobus pensilis</i>	13
	<i>Sequoia sempervirens</i>	3
	<i>Sequoiadendron giganteum</i>	10
<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	10	
Araucariaceae	<i>Araucaria angustifolia</i>	6
Taxaceae	<i>Taxus cuspidata</i>	9
	<i>Torreya nucifera</i>	6
Cupressaceae	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	5

### III 染色体の数的表示法と染色体のタイプ分け

#### 1. 染色体の相対長

細胞分裂は、分裂の進行過程によって、前期、前中期、中期、後期、終期などと呼ばれている。本研究の核型分析では分裂中期の染色体の形態を観察し、染色体の長さを測定したが、細胞分裂は連続的に進行しているから、分裂中期といえども、厳密には観察したすべての細胞が常に同じ分裂ステージであるわけではなく、染色体長の実測値そのままでは、同一樹種、同一個体であっても、細胞間では染色体長を比較することができない。したがって、各細胞間の染色体の長さを比較するためには、実測値をそれぞれの細胞ごとに相対的な値に置き換える必要がある。

染色体長の相対値の計算方法には、黒木<sup>72)</sup>、戸田<sup>147)</sup>などが用いているように、1細胞内の全染色体の長さの総和を100と考えると個々の染色体の相対長を計算する方法。半数染色体の総和を100あるいは1,000と考えると相対長を計算する方法<sup>51,120)</sup>。細胞内の最長染色体の長さを100と考えると、相対長を求める方法<sup>121)</sup>。半数染色体の長さの平均値を100とし、これに対する相対的な長さを求める方法<sup>124)</sup>、最短染色体の長腕の長さを1として、これに対する相対的な長さで表示する方法<sup>122)</sup>など、研究者によりさまざまな方法が用いられている。ヒトの染色体の表示方法については、1960年に、International study group<sup>51)</sup>が表示方法の統一に関する提案を行い、現在では半数染色体の長さの総和を1,000とし、千分率で表示されている。しかし、林木に関しては、現在まで、そのような提案はなされていない。本研究では、これまでの林木の染色体の表示が百分率で行われていたことを踏まえた上で、出来る限り表示方法が統一されているヒトの染色体に準ずることを考え、半数染色体の長さの総和を100とした百分率

で染色体の相対長を表示することとした。

## 2. 腕 比

染色体の形態を、数的に表示する方法としては、大きく2通りある。1つは腕比 (arm ratio) と呼ばれ、短腕長に対する長腕長の比<sup>51,77)</sup>、あるいは、それとは逆に、長腕長に対する短腕長の比で表示する方法<sup>122)</sup>である。もう1つは、着糸点指数 (centromeric index) と呼ばれ、染色体の全長 (長腕長+短腕長) に対する短腕長の比で表す方法<sup>51)</sup>である。しかしながら、それら3つの数的表示方法は、いずれか1つを求めておけば、相互に換算が可能であることから、あえて3通りで表示する必要はないものと考えられた。したがって、本研究では、数的表示として短腕長に対する長腕長の比 (L/S) の1通りのみで表示することとした。

## 3. 最長・最短染色体長比 (LSR)

上述の腕比は個々の染色体の形態を表す1つの数的表現方法であるが、この値では染色体構成 (chromosome complement) の大小、つまり染色体構成の長さのばらつきである最長染色体から最短染色体までの長さの減少割合を表現することはできない。そこで、本研究では染色体構成の長さのばらつきを表す数的指標として、最長染色体と最短染色体の長さの比 (the longest chromosome length / the shortest chromosome length略してLSR) を用いることにした。また、この値を用いるにあたって、便宜的に最短染色体の長さが最長染色体の長さの半分 (LSR=2.0) を目安とし、LSR<2.0を長さのばらつきが小さいと表現し、LSR≥2.0を長さのばらつきが比較的大きいと表現することにした。

## 4. 染色体のタイプ

染色体の数的表示に基づく染色体のタイプ分けは、個々の研究者で多少とも異なっていたが、篠遠<sup>122)</sup>、Levanら<sup>77)</sup>の2研究者は統一したタイプ分けを提案した。しかし、両研究者の提案内容は必ずしも同一ではない。本研究では、後者すなわちLevanらの提案に基づき、腕比が1.0のものをM型、1.0~1.7をm型、1.7~3.0のものをsm型、3.0~7.0のものをst型、7.0~∞のものをt型、∞のものをT型と呼ぶことにした。

## IV 相同染色体の決定法

一般に、1つの細胞内の1組の染色体組成のなかで、相同染色体同士だけではなく、非相同染色体同士の長さや形態が、類似している場合が少なくない。このような場合には、相同染色体同士を識別するのに慎重を期さなければならない。1968年、Caspersonら<sup>12)</sup>によるQバンド法の発表に引き続き、種々の染色体の分染法が開発・発表され、染色体の分節構造 (segmental structure)、つまり染色体の長軸方向の分染が可能になってきた。しかし、前章で述べたように、林木においては、染色体の分節構造によって染色体を識別できるようにはまだなっていない。したがって、これまでの林木の染色体の研究では、短腕および長腕の長さが最も類似するものを相同対とする方法<sup>120)</sup>、あるいは、Heneen<sup>37)</sup>がイネ科のカモジグサ (*Agropyron*) 属の染色体の研究で用いた方法、すなわち個々の染色体の相対長と腕比 (短腕/長腕) をグラフの両軸にとり、1組の全染色体の中で互いに最も近接するものを、相同対とする方法がとられていた<sup>72,101,146)</sup>。本研究では、それらの方法と多少異なり、ヒトの染色体の相同対の決定に用いられている方法に準じた。すなわち、まずはじめに、約2,000倍前後に引き伸ばした顕微鏡写真の1つの細胞内の染色体を1本1本すべて切り抜き、相同対を組合せた。この組合せにあたっては、染色体のわずかな染まりの違い、狭窄 (くびれ) の位置などに細心の注意を払った。次に、染色体の全長および短腕長、長腕長を測定し、それらの測定値に基づき、再度相同対の組合せを行い、写真で組合せた

ものと詳しく比較検討しながら最終的な相同対を決定した。

### 第3節 核小体形成部 (NOR) と核小体の分染に関する研究方法

核小体形成部 (NOR) または、核小体形成体 (nucleolus organizer; OR) は、リボソームRNA (ribosomal RNA, rRNA) の合成の場であり<sup>18)</sup>、しばしば、このNORの部分は細胞分裂中期の染色体では、二次狭窄 (二次くびれ; secondary constriction) と呼ばれる、染色体のらせんが解けて細くなった部分として観察することができる<sup>50)</sup>。また、染色体自身がNORのところで細くなっていない場合でも、染色体の繊維の直径はずっと小さくなる傾向にある<sup>18)</sup>。このNORを特異的に染め出す (分染する) 方法は、1973、1974年、Matsuiら<sup>84, 85)</sup>によって報告され、N-バンドとよばれた。その後、1975年に Goodpastureら<sup>24)</sup>により、再現性、染色性の高いAg-As法 (silver nitrate-ammoniacal silver; 硝酸銀-銀アンモニア水溶液法) が報告されたが、実験方法が繁雑であり、しかも写真用の電球を用いて感光 (光反応による染色) をしなければならないなどの欠点をもっていた。翌1976年、Bloomと Goodpasture<sup>6)</sup>は前法を改良し、極めて容易に染色できる方法、すなわちAg-I法 (硝酸銀-incubation法) を発表した。現在、NORおよび核小体の染色には、多くの場合Ag-I法が、研究者によってはAg-As法が用いられている。この両方法で特異的に染色 (分染) される物質について、Goodpastureと Bloomは、核小体がリボソーム (ribosome) に富むことから、ribosomal DNA (rDNA) あるいは ribosomal RNA (rRNA) のいずれかであろうと推測していた。しかし、Howell<sup>48)</sup>はコオロギの卵母細胞を用い、詳しく生化学的な検討を加えた結果、当初考えられていた物質のrDNA、rRNAのいずれでもなく、rRNAに付随する非塩基性タンパク質 (non-histon protein) であることを明らかにした。

本研究で用いたAg-I法は、Bloomら<sup>6)</sup>の原法を、倉田ら<sup>69)</sup>、Kurataら<sup>70)</sup>のイネの染色法からヒントを得て、独自に改良した次のような方法である：

- (1) 核型の観察に用いたプレパラートの中で、細胞分裂中期の細胞が多いものを選び、封かんに用いたネイルエナメルの一部を、ネイルエナメルうすめ液で拭き取る (一部のみで全部を拭き取る必要はない)。
- (2) 弱いブンゼンバーナーの炎にかざし素早く封入剤として使用されている45%酢酸を蒸発させる (乾燥させる)。
- (3) 乾燥させ、まだ暖かいうちに、薄くて鋭利な刃物 (安全カミソリ、カッターナイフなど) で、素早くネイルエナメルごとカバーガラスを剥ぎ取る。
- (4) 乾燥を防ぐため蒸留水を底に入れた小さな密閉容器内にスライドグラスを入れ、50%硝酸銀水溶液を滴下した後、密閉する。
- (5) 50℃で2～3時間加温 (incubation) する。ただし、その日の温度条件、スライドグラス上に貼着している試料の水分条件などにより、時間の経過にともなう染色の進行程度が異なるので、必要に応じて時々染まりの程度をチェックする。
- (6) 十分に蒸留水で水洗後、1昼夜乾燥する。
- (7) スライドグラス上に封入剤を滴下しカバーガラスをかけ、プレパラートに作製する。封入剤には種々のものがあるが、本研究ではカーギル油を用いた。この場合、カーギル油は乾燥しないので、検鏡の際にカバーガラスが移動してしまう心配がある。これを予防するため、ネイルエナメルで簡単に再封かんする。

以上のように染色すると、NORと核小体は黒褐色に濃染し、それ以外の部分は黄褐色に淡く染色され、両者は明瞭に識別される。

#### 第4節 相対的DNA量の測定方法

近年、走査型顕微分光濃度計（Scanning microdensitometer）の登場により、比較的簡単にDNA量の測定が可能になってきている。

本研究では、走査型積分顕微分光濃度計（Nikon-Vickers M85a）を用い、次のような方法で相対的DNA量を測定した：

- (1) 試料の採取、前処理、固定は、核型分析に用いた方法と同じである（前処理、0.002molオキシキノリン、10℃、24時間；固定、酢酸アルコール）
- (2) 水洗（蒸留水）
- (3) 1規定塩酸を用い60℃で12分間、加水分解
- (4) 水洗（蒸留水）
- (5) 染色（Schiff試薬、室温で3時間）
- (6) 亜硫酸水で染色停止（10分、3回）
- (7) 水洗（蒸留水）

以上のような試料の採取から染色までの実験方法は、ほぼ前述の核型分析の方法と同じであるが、加水分解の温度と処理時間、染色時間、染色停止時間については極めて慎重にしかも厳密に行った。このように染色した試料は、ただちにプレパラートに作製した。作製したプレパラートはフォイルゲン染色によっているので時間がたつと退色し、正確な測定が行えない恐れがある。そのため、作製の翌日に空路、日本光学大船製作所（神奈川県）に持参し、走査型積分顕微分光濃度計（測定波長570nm）を用い測定を行った。測定にあたって、DNAの基準試料を用いることができず、測定値を絶対量には換算できなかった。したがって、本研究の測定値は、すべて相対的DNA量として表示した。測定細胞数は、1樹種最低10細胞である。測定細胞の細胞分裂の時期は間期核の初期（early interphase）、終期（telophase）および中期（metaphase）である。なお、分裂中期ではDNA量は2倍量となっているので、この時期の細胞についてのみ、測定値の半量をDNA量とした。

#### 第5節 研究方法に関する論議

##### I 核型分析に関する研究方法について

###### 1. 前処理

染色体の観察に当たっては狭窄（くびれ）の部分に明瞭にすること、染色体を適当に分散させること、染色体を適当に短縮させることなどを主な目的として前処理が行われる<sup>96,119)</sup>。林木、特に球果植物の染色体に関する研究でこれまで用いられている前処理をいくつか挙げると、黒木<sup>72)</sup>はオキシキノリン水溶液（0.3g/l；0.002mol）を用い12℃で24～36時間、0.2%コルヒチン（colchicine）を用い20℃、4時間あるいは0.1%のコルヒチン20～40時間（温度記載されず）の3種類の前処理を行っている。戸田<sup>147)</sup>は0.002molオキシキノリン水溶液0℃、12時間処理後、23℃で2～3時間の後処理を行っている（冷温処理）。Simakら<sup>124)</sup>は発芽種子を0℃のシャーレ内で低温処理し、引き続き温処理を行い好結果を得ている。諸見里<sup>93)</sup>は0℃、24～48時間冷処理後、引き続き20～25℃で1～2時間温処理とSimakら<sup>124)</sup>に類似した前処理を用いている。Schlarbaumら<sup>113,116)</sup>は0.002molオキシキノリン水溶液を用いて4℃で24～36時間の処理を行っている。松田ら<sup>82)</sup>は1～3日間の低温処理（0℃）と引き続いてのオキシキノリン（0.002mol、4℃、20時間）処理とを併用している。染郷ら<sup>127)</sup>はオキシキノリン（0.002mol、12℃、30時間）の前処理を行うなど研究者はそれぞれ独自に工夫し、好ましい染色体像の観察に努めて



いる。

本研究では、前処理の温度条件の決定にあたって、0℃～室温まで種々の温度で予備実験を行った結果、戸田<sup>147)</sup>、Simakら<sup>124)</sup>、諸見里<sup>93)</sup>が用いている0℃で前処理を行うと、諸見里<sup>93)</sup>が指摘しているように、細胞内の核は核濃縮 (pynosis) と呼ばれる異常凝集をしており、そのままの状態では固定・染色しても染色体を観察することができなかった。したがって、0℃で前処理を行った場合には、3研究者のいずれもが試みているように、冷処理 (低温処理) に引き続く温処理を行い、核濃縮つまり異常凝集をときほぐすことが必要となる。このことは、0℃の温度条件は少なくとも球果植物の染色体観察に関しての前処理としては、必ずしも好ましいとはいえず、むしろ核濃縮を起こさない温度条件を選定することが適切なことを暗示しているように思われた。また、一般的に球果植物の染色体は比較的長く、しかも二次狭窄などの表徴に乏しいことから、染色体が極端に短縮し、スティッキイ (sticky) になっていると、個々の染色体の識別がむずかしくなる。したがって、前処理にあたってはあまり急激に反応を起こさない温度条件の選定と薬品 (試薬) を選定すること、これまでの研究結果との比較を考慮し、できるだけ多くの研究者が用いている薬品であることの2点に注意を払った。その結果、本研究での前処理の薬品としては、球果植物の染色体観察によく用いられているオキシキノリン (0.002mol) を使用することとした。また、オキシキノリンを前処理に最初に用いたTjioら<sup>144)</sup>は、前処理の最適温度条件は18℃であり、これ以上の温度ではスティッキイになると指摘している。核濃縮を生じず、スティッキイにならない温度条件であり、しかも染色体が適当に短縮し、狭窄が明瞭である処理温度、処理時間として10℃、24時間を用いることにした。本研究では、この前処理方法により、極めて良好な体細胞分裂中期の染色体像を観察することができた。

## 2. 固定液

本研究での固定液は、70%エチルアルコール・酢酸溶液 (容積比3:1) を用いた。通常この固定液には95%あるいはそれ以上の濃度のエチルアルコールが用いられる。アルコールの濃度が高ければ、試料からの脱水は強くなり、著しく収縮する。アルコールの濃度が低ければ、収縮は弱くなるが、固定力は低下する。しかしながら、収縮が強ければ、おしつぶし法でプレパラートを作製する際に組織のちらばり方、染色体のちらばり方が悪くなることも考えられる。また、試料として用いた苗木の根端は、年間を通じて伸長するのではなく、一年に最低2回程度の発根時期に著しく発根し、それ以外の時期には比較的発根が散発的なことが多かった。すなわち、年間を通じてコンスタントに試料を採取するのではなく、ある時期にかなり多くの試料を採取し、処理しなければならなかった。本研究で用いたフォイルゲン染色は、染色後退色を生じることから、染色した試料を長期間にわたって保存することはできない。したがって、前処理と固定まで実験を行い、染色とプレパラートの作製までの間固定した材料を、保存しておかなければならない。固定液として用いたエチルアルコール・酢酸溶液は、酢酸を含むことから細胞を膨化させる欠点があり、長期間の保存液としては適さない。固定後ただちに染色しない場合には、別の溶液に保存しなおす必要がある。保存液としては種々の溶液が使われるが、本研究ではKalm<sup>59)</sup>がユリ (*Lilium*) 属で用いているのと同様、70%エチルアルコールを使用した。保存液として70%濃度のエチルアルコールを用いたことから、固定液に使用するエチルアルコールの濃度 (70%と95%以上の濃度) によって、その固定力に差がなければ、あえて収縮力の大きい高濃度のものを使用する必要はないと考えられた。そこで70、80、90、95%および無水とエチルアルコールの濃度を変えた固定液で、固定の状態を比較したところ、著しい差はほとんどみられなかった。むしろ高濃度のアルコールを使用して固定した試料は、70%のものよりも心持ちおしつぶしによる組織の分散が悪いように思われた。固定力に著しい差がないこと、組織の収縮が大きくなり心持ちおしつぶし時の分散がよいこと、保存液のアルコール濃度と同じであることなどの理由から、本研究では70%エチルアルコールを使った固定液を選択することにした。また、この固定液と保存液の使用により、十分満足できる結果を得る

ことができた。

### 3. 染色体のタイプ分け

本研究での染色体のタイプの表示は、Levanら<sup>77)</sup>に基づいたが、わが国での林木の染色体の研究では、篠達<sup>122)</sup>に基づいた考え方でタイプ分けされることが多い。しかしながら、篠達<sup>122)</sup>でのタイプ分けは、(短腕長) / (長腕長) の値が1.00~0.75をm型、0.75~0.50をsm型、0.50~0.25をst型、0.25~0.00をt型とタイプ分けしており、計算上は極めてシステマティック(systematic)ではある。しかし、Fig. 1に示した通り実際に染色体を図示してみると、m型→t型の長腕長の増加割合(短腕長の減少割合)

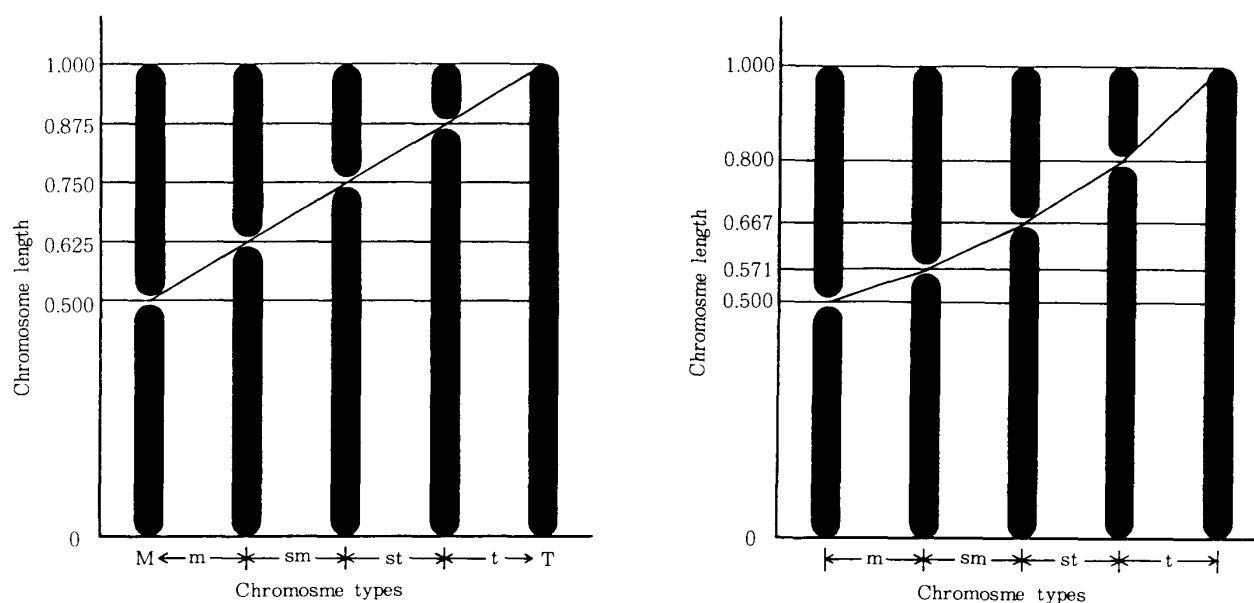


Fig. 1. Comparison of chromosome types. Left, chromosome types proposed by Levan *et al.*<sup>77)</sup>; right, chromosome types proposed by Sinoto<sup>122)</sup>.

は必ずしもシステマティックではなかった。それに比較し、Levanら<sup>77)</sup>では長腕長の長さの増加割合(短腕長の長さの減少割合)が直線的で、常に一定しており、このタイプ分けがよりシステマティックであり、好ましいタイプ分けと考えられた。したがって、本研究では後者に基づいた染色体のタイプ分けを用いた。

### 4. 相同対の決定

わが国の林木の染色体に関する研究者は、相同対の決定にHeneen<sup>37)</sup>がカモジグサ属の相同対の決定に用いた方法、すなわち染色体の相対長と腕比をグラフの両軸にとり、1組(1細胞)の全染色体をプロットし、互いに最も近接するものを相同対とする方法をとる場合が少なくない。これとは別に、短腕と長腕の長さに注目し、それらの類似したものを相同対とする方法も用いられている<sup>93)</sup>。いずれの場合とも、二次狭窄のようなはっきりとした特徴は相同対の決定に大きな役割を果たしていることは間違いないところであろうが、実際には二次狭窄のようなはっきりとした特徴を持たない染色体が大部分を構成している。したがって、染色体の相同対の決定は、染色体の長さの測定値および腕比に基づいて行わざるを得ないことになる。しかしながら、染色体の測定にあたっては、染色体が必ずしも常に同一平面にあることが少なく、測定値自体に多少とも誤差が含まれている可能性があることを十分考慮しておく必要がある。つまり、単に測定値のみに基づいて相同対を決定することは、極めてわずかではあろうが、非相同染色体を過って相同対としてしまう過誤を含んでいることになる。本研究では可能な限りそ

の過誤の解消に努め、顕微鏡写真の染色体を1本1本すべて切り抜き、その組合せと測定値による組合せを平行して行う2段階での相同対の決定方法を採用した。この際、わずかな染色体の染まりの違いが極めて大きな相同対決定の要因となり得た。本研究で用いた2段階での相同対の決定方法は、少なくともこれまで林木の染色体の研究で行われてきた方法よりも、過って非相同染色体を相同対とみなしてしまう過誤が少なくなったと考えている。

## II. 核小体形成部 (NOR) と核小体の分染について

前節で概説したように、NORを特異的に染色する方法は、Matsui and Sasaki<sup>81)</sup>によって報告されたN-バンド法である。この方法は、ほ乳動物の培養細胞を材料とし、ギムザ (Geimsa) 染色のメカニズムを解明する過程で、核酸と塩基性タンパク質であるヒストン (histon) を取り除いた染色体をギムザ染色すると、NORのみが染色されるということから見い出された。しかしながら、この方法は trichloroacetic acidあるいはDNaseとRNaseを使用しなければならず、必ずしも簡単な方法ではなかった。次いで、1975年Funakiら<sup>21)</sup>は、N-バンド法にやや改良を加えた方法で27種の動・植物のNORを染色することに成功した。しかし、同じ1975年GoodpastureとBloom<sup>24)</sup>はAg-As法と呼ばれる感光反応を利用してNORを特異的に染色する方法を開発した。このAg-As法もあまり簡便な方法ではなかった。翌1976年に、Bloomら<sup>6)</sup>は前法を改良したAg-I法を発表した。この方法は感光反応させる必要はなく、その代わりに温度処理を用いる方法で、染色方法が容易であった。このAg-I法は動物ばかりではなく、広く植物のNORの分染にも応用されはじめた<sup>45,59,117)</sup>。しかしながら、植物でのNORの分染では、必ずしも高い再現性をもってはいないとの指摘もみられた。Hizumeら<sup>45)</sup>は、その理由として、解離 (maceration) に塩酸を用いることにあると指摘し、解離にはセルラーゼ (cellurase)、ペクチナーゼ (pectinase) などの酵素を使用すべきであると提案している。しかしながら、筆者は①Kalmら<sup>59)</sup>のユリ (*Lilium*) 属のAg-I法染色では解離に塩酸が使われており、塩酸そのものがAg-I法には支障を与えないであろうこと、②また、塩酸がAg-I法での硝酸銀の反応に影響をおよぼすとしても塩酸での解離後、十分に水洗することにより塩酸を洗い流すことができるであろうこと、③これまでの植物染色体の観察では、解離には塩酸を用いることが多いので、もし塩酸がAg-I法での染色に強い影響を及ぼすのであれば、染色体の観察とAg-I法での観察とを別々に実験しなくてはならず、繁雑になることから、可能ならば両方の観察を結び付けた処理方法としたいことなどを念頭においてAg-I法の改良に努めた。その結果、①十分に乾燥している試料であれば、比較的短時間で染色され、乾燥が十分でなければ染色に時間をかける必要があること、②塩酸で解離を行っても高い再現性で染色され、必ずしも塩酸による解離がAg-I法での染色には影響を与えず、塩酸での解離の代わりに酵素での解離を必要としないことなどがわかった。しかし、問題点として、①観察できる分裂中期の細胞数が少なく、観察できる分裂細胞の多いプレパラートをAg-I法で染色しなければ、極めて効率が悪いこと、②Ag-I法ではNORは黒褐色に濃染されるが、その他の染色体の部位は淡黄色に染色され、この淡黄色の部位のコントラストが弱く観察しにくいことなどがはっきりしてきた。この②の解決方法としては、Ag-I法で染色後、さらに再染色を施せば良いことがわかったが、①も同時に解決できる方法として、まず最初に染色体を染色した試料を観察し、その中で、適当な分裂中期の細胞の多いものを選び出すこと。次いでそのプレパラートをAg-I法で染色することであることがわかった。この方法であれば、これまで筆者をはじめ多くの研究者が用いていた染色体の観察プレパラートをAg-I法で再染色するだけであり、余分に試料の採取や実験を行わなくても良いことになる。その観点から、染色体の観察に用いていたフォイルゲン染色したプレパラートの中から分裂中期の細胞の多いものを選びだし、Ag-I法で再染色したところ、極めてコントラストが良く、しかも比較的容易にAg-I法で濃染したNORを観察することが可能となった。

また、おしつぶし法でプレパラートを作製した後、C-バンド、Q-バンド法などで染色する場合、

あるいは今回のように再染色する場合には、カバーガラスを剝離しなければならない。このカバーガラスの剝離には、従来ドライアイスや冷却用液化ガス（dichloro-difluoromethane）のスプレーが用いられていたが、ドライアイスでは実験のたびに購入する必要があること、冷却用液化ガスは比較的価格が高いことなどがあり、簡単でしかも安価な方法が望まれた。本研究では、この点に関しても改良に努め、倉田ら<sup>69)</sup>、Kurataら<sup>70)</sup>がイネの核型分析に、従来植物ではあまり用いられていなかった引火法（フレームドライ法）を使用したことにヒントを得て、カバーガラスの剝離にブンゼンバーナーの弱い炎を使用する、一種の変形フレームドライ法を思いついた。この方法であれば極めて安価に、しかもいつでも実験が可能である。封かん剤として用いているネイルエナメルの一部を除光液（ネイルエナメル薄め液）で拭き取り、弱いブンゼンバーナーの炎にかざすと封入に使用している45%酢酸は簡単に蒸発してしまう（このために、あらかじめネイルエナメルの一部を取り除いておく、全部を取り除く必要はない）。封入液の蒸発にともない試料は大部分スライドガラスに、一部はカバーガラスに貼着する。また、封かん剤のネイルエナメルは熱すると軟らかくなり、極めて簡単にのみそりやカッターナイフでカバーガラスごと剝ぎ取ることができる。このようにカバーガラスを剝離したものは、ドライアイスや冷却用液化スプレーで剝離したものよりも試料の乾燥状態が良く、Ag-I法で染色しやすい傾向がみられたが、少なくとも1昼夜程度以上さらに乾燥した方が良く、乾燥状態が悪ければAg-I法での染色に時間を必要とし、スライドガラスへの試料の貼着も悪かった。

このように、フレームドライ法の変形である本法を用いると極めて容易に、しかも必要に応じて手軽に実験が行えた。また、従来のカバーガラスの剝離方法でのプレパラートよりも染色性も良いことがわかった。Hizumeら<sup>45)</sup>はAg-I法に塩酸での解離を用いることは好ましくなく、酵素での解離を提案しているが、むしろ試料の乾燥の程度が強くなり染色に影響をおよぼしており、塩酸での解離そのものが大きな影響をおよぼしているとは考えにくかった。Ag-I法で極めて重要なポイントはいかにして観察に適切なプレパラートを容易に作製できるかということであり、細胞分裂中期の細胞が多ければ多いほど、観察効率が高くなるといえる。そのためにもAg-I法で染色する前に、適当なプレパラートを選び出すことが肝要である。本研究で改良した方法は、最初に染色体を観察したプレパラートの中から適当なものを選び出し、次に、それを変形フレームドライ法でカバーガラス剝離し、Ag-I染色するために極めて効率的であるとともに、事前にフォイルゲン染色が施されているためAg-I染色とのコントラストがついてより観察し易くなったなどの利点も合わせもっていた。

### Ⅲ 相対的DNA量の測定について

DNA量の測定は、生化学的方法と顕微鏡下における組織化学的方法とに大別され、前者は分離、精製などによりDNAを抽出し、それを定性、定量するのが一般的方法であり、後者はフォイルゲン染色やメチルグリーン・ピロニン染色などを施し紫外線あるいは特定の波長の吸収を顕微鏡下で測定する方法である<sup>52)</sup>。また、前者によって得られた1細胞あたりのDNA量と核容積（nuclear volume）に高い正の相関があることから<sup>5)</sup>、核容積を測定し、この核容積の値を基にDNA量を推定する方法などもみられる<sup>99)</sup>。本研究では、信頼度が高く、比較的实验方法が容易なフォイルゲン染色を用い、高い精度での測定が行える走査型積分顕微分光濃度計を利用してDNAを定量した。しかし、前述したように本研究ではDNAの基準試料を用いての測定ができず、測定値を絶対値には換算することができなかった。したがって、測定値をすべて相対値として表示した。

また、近年の球果植物のDNAの定量にあたって、フォイルゲン染色の実験方法のなかで必ず必要とされる加水分解（hydrolysis）に、処理安定時間が長く、実験しやすいことから、1規定塩酸（60℃）ではなく、5規定塩酸を用い室温（20℃）で1時間あるいは20分処理する報告などがみられる<sup>17,143)</sup>。しかしながら、相対的なDNAの定量については、実験の精度、厳密さが要求され、総ての供試樹種に

ついて同一方法、同一精度で実験が行われるのであれば、Teohら<sup>143)</sup>のように5規定塩酸をあえて用いる必要はないと考え、従来通りの方法(1規定塩酸、60℃)の加水分解を用いた。なお、処理時間、処理温度については核型分析の実験より以上に細心の注意を払い実験の精度と厳密さにつとめ、実験上の誤差の回避を心がけた。

### 第三章 核型分析

#### 第1節 スギ科の核型分析

##### 1. コウヤマキ (*Sciadopitys*) 属

本属は、コウヤマキ (*Sc. verticillata*)

1属1種である。コウヤマキの体細胞分裂中期の染色体はFig. 2に示した。染色体数は $2n=20$ であり、1対2本の染色体の腕上(腕の介在部)に二次狭窄が認められた。解析細胞の平均染色体相対長、腕比などの形態的な値はTable 6に掲げた。この値に基づき染色体を模式的にイデオグラム(idiogram)として表すと、Fig. 3のようになった。二次狭窄は第7染色体長腕のやや動原体(一次狭窄)よりに位置していた。10対の染色体はすべてm型染色体であった。染色体構成の長さの変化をカロオグラフとして描くとFig. 4のようになった。染色体の全長は最長染色体から最短染色体まで漸減しており、あまり急激な変化はみられなかった。染色体の長腕長の変化では、第4染色体の長腕

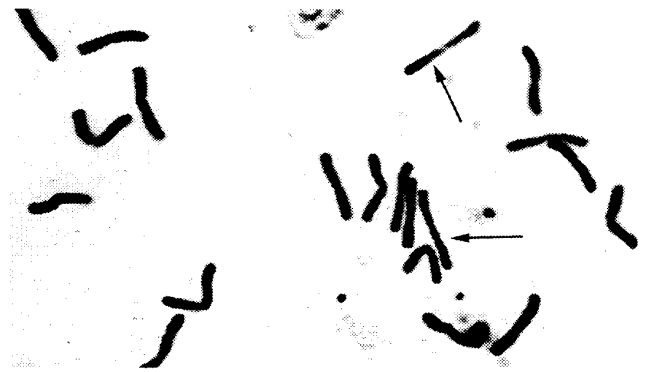


Fig. 2. Photomicrograph of *Sciadopitys verticillata*. Arrows indicate the secondary constriction.

Table 6. Basic morphometric data on chromosomes of *Sciadopitys verticillata*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.9	5.8	12.7	±	0.85	1.2	m
2	6.1	5.2	11.3	±	0.40	1.2	m
3	5.7	4.9	10.6	±	0.36	1.2	m
4	5.9	4.5	10.4	±	0.41	1.3	m
5	5.2	4.7	10.0	±	0.31	1.1	m
6	5.1	4.3	9.4	±	0.17	1.2	m
7	3.5 + 1.6	4.2	9.3	±	0.66	1.2	m
8	4.9	4.3	9.2	±	0.25	1.2	m
9	4.7	4.1	8.8	±	0.29	1.2	m
10	4.4	3.8	8.2	±	0.31	1.2	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with eleven cells for each item.

\*\* S.D. means standard deviation.

が前後の染色体の長腕よりも長く、ここに1つのピークをもった形となっていた。このように長腕の長さの変化にピークを示すことは、前後の染色体に比較して、その染色体の全長に占める長腕の比率が大きい（全長に占める短腕の比率が小さい）こと、すなわち前後の染色体よりも腕比の大きい染色体であることを示している。

染色体構成の長さのばらつきを表す指標であるLSR(最短染色体の長さに対する最長染色体の長さの割合)を計算すると1.5であり、染色体構成の長さのばらつきは小さかった。

これまで、コウヤマキの染色体について、Tahara<sup>135,136)</sup>は雌性配偶子の有糸分裂と花粉母細胞の減数分裂の観察で、染色体数が $n=10$ であることを述べている。その後、しばらく本種の染色体に関する研究はみられなかった。1976年Schlarbaumら<sup>115)</sup>は、解析細胞数1細胞ではあるが、詳しい核型を報告している。それによれば、染色体数は $2n=20$ 、最短染色体の短腕に付随体があり、この染色体のタイプはsm型～st型、残り9対の染色体はM型～m型としている。この報告では、付随体の長さは染色体の長さに含まれず、この染色体の腕比も付随体を除いた部分のみで計算されている。

付随体染色体、すなわち付随体(trabant, satellite)を有する染色体は、SAT染色体(SAT-chromosome)とも呼ばれる。このSATには、satelliteの意味とsine acido thymonucleico(チモ核酸を有しない)の両方の意味が含まれていることから、付随体染色体とは「染色体の末端に連結糸(connecting fiber)とそれに付随する小粒である付随体(trabant)を有するいわゆる付随体染色体」と「不染部分である二次狭窄をもつ染色体」の両方を含めて広義に解釈されることがある<sup>62)</sup>。本研究では、用語による解釈の混乱を避けるため、本種の第7染色体のように染色体腕の介在部に二次狭窄を有する染色体と後述のスギあるいはコウヨウザンなどの付随体とは明確に区別しておくべきと考えた。したがって、染色体腕の介在部に位置する不染部分は、狭義に「二次狭窄」と解釈し、この二次狭窄によって分けられる染色体の末端寄りの部分は染色体の腕部に含め、付随体とは解釈しないことにした。

このような考えに基づくと、Schlarbaumら<sup>115)</sup>が指摘している最短染色体は、付随体染色体ではなく、

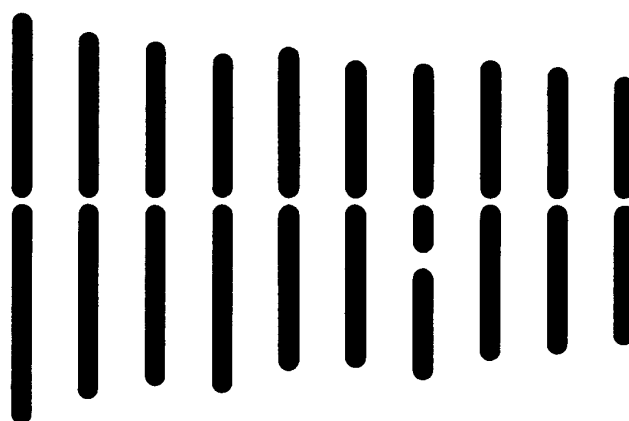


Fig. 3. Idiogram of haploid chromosome complements of *Sciadopitys verticillata*.

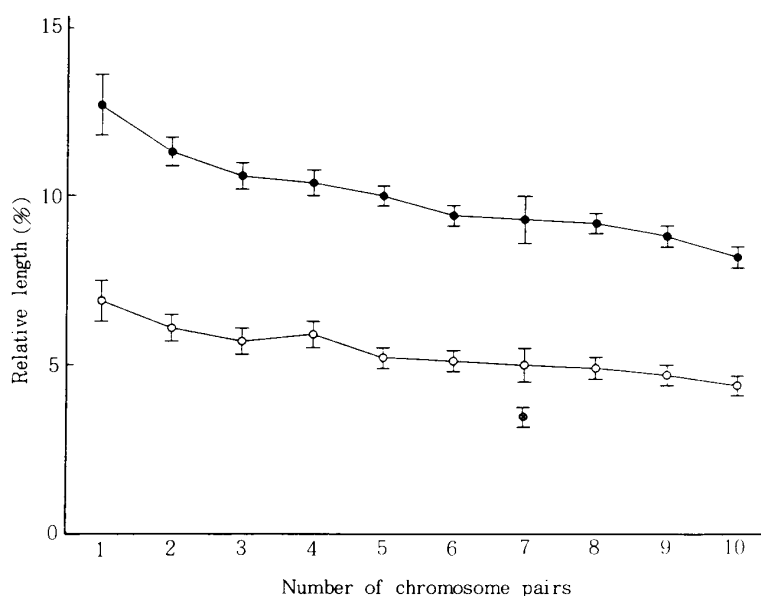


Fig. 4. Karyograph of *Sciadopitys verticillata*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; bar, standard deviation.

腕部に二次狭窄を有する染色体となる。付随体の長さを染色体長に含めて計算し直すと、この腕は短腕ではなく長腕に、長さの順でも最短ではなく第7染色体に、染色体のタイプではm型となる。したがって、Schlarbaumら<sup>115)</sup>の結果と本研究の結果とは、ほぼ一致しているとみなせた。

## 2. スギ (*Cryptomeria*) 属

### (1). スギ (*Cr. japonica*)

#### 1) 2 倍体

##### a) イワオスギ (*Cr. japonica* cv. *Iwaosugi*)

イワオスギの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、染色体短腕の介在部に二次狭窄をもつ染色体が1本と、動原体に近接する部分が長くくびれた特徴的な型の染色体が1対2本観察された (Fig. 5)。染色体長、腕比などの形態的なデータはTable 7に、この値に基づきイデオグラムを描くとFig. 6のようになった。第6染色体のみがヘテロ (heterozygosis) な組合せであり、2本の第6染色体のうち1本の短腕に二次狭窄がみとめられた。動原体に近接する部分が長くくびれる特徴的な型の染色体は、第10染色体であった。この特徴的な形の部位は、Fig. 7に見られるように、様々な形に観察され、常に一定の形を示すとはいえなかった。この特徴的な部位は、染色体が比較的長い状態の前・中期 (pro-metaphase) では、長くくびれた部分に存在する染色部分が小さい傾向にあり、時にはいく



Fig. 5. Photomicrograph of *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi*. Arrows indicate the intercalary long constriction. Arrowhead shows the secondary constriction.

Table 7. Basic morphometric data on chromosomes of *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.3	5.8	12.1	±	1.34	1.1	m
2	5.8	5.2	11.0	±	0.49	1.1	m
3	5.2	4.9	10.1	±	0.43	1.1	m
4	5.4	4.3	9.7	±	0.55	1.3	m
5	4.8	4.3	9.1	±	0.30	1.1	m
6	4.5	1.4 + 2.7	8.6	±	0.30	1.1	m
7	4.7	3.8	8.5	±	0.34	1.3	m
8	4.3	3.8	8.1	±	0.32	1.1	m
9	4.2	3.6	7.8	±	0.35	1.2	m
10**	4.8	2.9	7.7	±	0.82	1.7	sm
11	4.1	3.2	7.3	±	0.30	1.3	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with eight cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trantab of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

つかの小粒として観察された。染色体が比較的短縮した状態の中・後期 (meta-anaphase) には、長くくびれた特徴的な部位に認められる染色部分は幾分大きく、1個の小粒として観察されることが多かった。染色体が極端に短縮している場合には、特徴的な部位も縮まっており、長くくびれた部分にみられる染色された小粒と動原体の位置するくびれ (一次狭窄) とを識別することが困難なこともあった。染色体のタイプは、第10染色体のみがsm型、残り10体はm型染色体であった (Table 7)。染色体構成の長さの変化を、カリオグラフで表示するとFig. 8に示したようになった。染色体の長さ (全長) は、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。LSRを計算すると1.7であり、最長染色体と最短染色体の長さのばらつきも小さかった。長腕長は第4、第7、第10染色体にピークがみられ、これらの染色体の長腕は前後の染色体の長腕に比較して長かった。特に、第10染色体は唯一のsm型染色体であることから比較的大きなピークとなっていた。

イワオスギについては、これまで戸田<sup>158)</sup>が核型および花粉母細胞

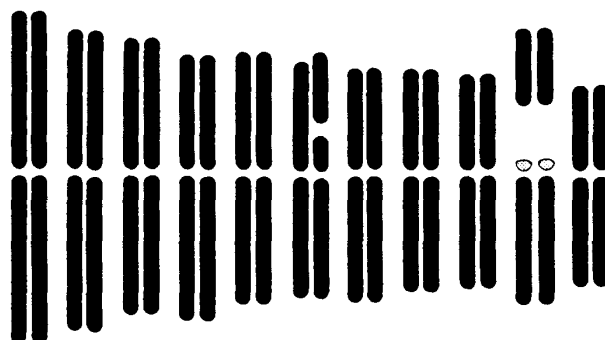


Fig. 6. Idiogram of diploid chromosome complements of *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi*. Small dotted intercalary trabants are not included in chromosome's measurements.

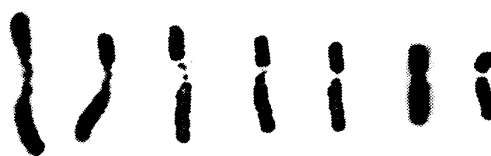


Fig. 7. Different shapes of the chromosome with long constricted proximal region observed in *Cr. japonica* cv. *Iwaosugi*.

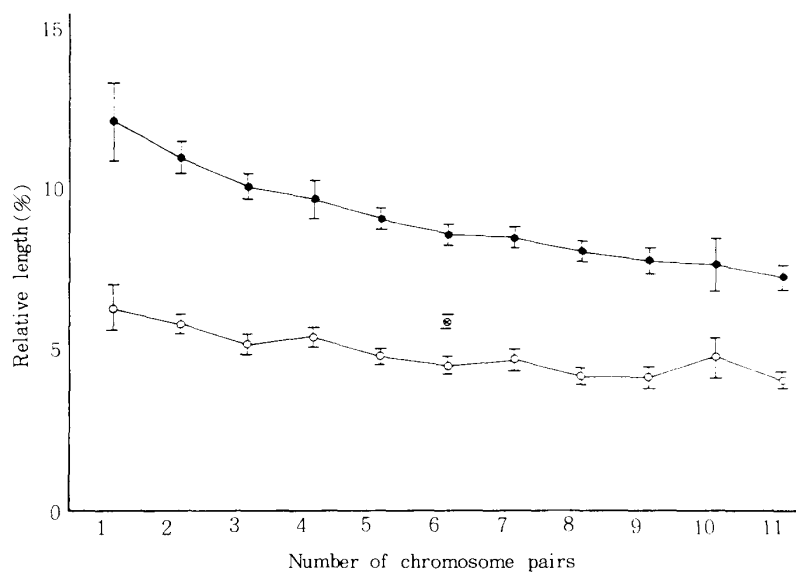


Fig. 8. Karyograph of *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; cross mark, secondary constriction; bar, standard deviation.



(pollen mother cell以下PMCと略す)における減数分裂について報告している。それによれば、イワオスギ第6染色体はヘテロな組合せであり、1本の染色体には二次狭窄が見られ、残り1本には二次狭窄がないこと、第10染色体(戸田<sup>158)</sup>はJ染色体と名称している)は動原体に近い部分に二次狭窄があり、Köpfchen(乳首)と連結系(connecting fiber)およびそれに付随する大型のサテライトからなる特異的な染色体としている。また、PMCの第1分裂における染色体の対合では11Ⅱ、10Ⅱ+2Ⅰ、9Ⅱ+4Ⅰが観察され、その後の染色体分離にも異常がみられたと述べている。本研究の結果と比較すると第6染色体についてはほぼ一致しているが、第10染色体の形態の捕らえ方については若干の違いが見られる。木原ら<sup>62)</sup>によれば、「染色体の腕が短くて乳首のごとき感をあたえる場合は、これを乳首(Köpfchen)という」と定義されている。戸田がKöpfchenと呼ぶ部分は、フォイルゲン染色で染色されることから、DNAが存在していることは間違いのないものと思われる。このことから、染色体の腕の長さが極端に短い状態と解釈すれば、木原ら<sup>62)</sup>の定義に該当するKöpfchenといえないこともない。しかしながら、本研究の観察では、この部分の大きさが必ずしも一定しないこと、時には2つ以上の小粒として観察されることなどから、厳密にはその部分の長さが測定できず、この長くくびれる部分に観察される小粒を染色体の長さには含めて考えることができなかつた。したがって、Köpfchenと称するとある程度の長さ(相対長で表示すると常にほぼ一定の長さ)をもった染色体の短い腕と解釈される恐れもあることからKöpfchenの名称は用いなかつた。むしろ、その形態からみると、長くくびれとその先端に位置する付随体と考えることができ、動原体(一次狭窄)に小粒状についている付随体、すなわち、中間付随体(intercalary trabant)と解釈した方が妥当と思われる。したがって、本研究ではイワオスギの第10染色体の動原体に近接する部位にみられる特徴的な部分は、単に「長くくびれる特徴的な部分」と呼ぶか、あるいは「中間付随体」の名称を用いることにする。また、この中間付随体に対しては、intercalary trabantが用いられており、intercalary satelliteは用いられていない。また、付随体はsatelliteあるいはtrabantと呼ばれるが、中間付随体にintercalary trabantを用いることから、用語を統一する意味で、本研究では付随体に対してtrabantを用いることにした。

#### b) メアサ (*Cr. japonica cv. Measa*)

メアサの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、動原体に近接する部分が長くくびれる特徴的な染色体、すなわち中間付随体を有する染色体が1対2本観察された(Fig. 9)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 8に、その値に基づくイデオグラムはFig. 10に掲げた通りである。中間付随体を有する第10染色体はsm型、残り10対はm型染色体であった。染色体の長さ(全長)は、カリオグラフ(Fig. 11)に示したように、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。長腕長では腕比が1.4と比較的大きい第7染色体とsm型である第10染色体にピークがあり、この染色体の長腕は前後の染色体の長腕よりも長かつた。LSRを計算すると1.6であり、染色体構成の長さのばらつきは小さ

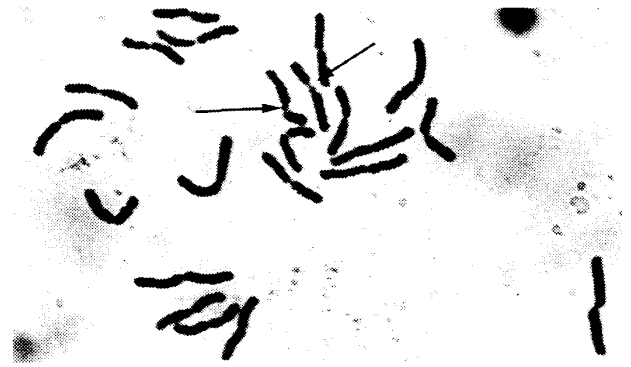


Fig. 9. Photomicrograph of *Cryptomeria japonica cv. Measa*. Arrows indicate the intercalary long constriction.

Table 8. Basic morphometric data on chromosomes of *Cryptomeria japonica cv. Measa*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.3	5.8	12.1	± 0.80		1.1	m
2	5.7	5.2	10.9	± 0.44		1.1	m
3	5.5	4.7	10.2	± 0.46		1.2	m
4	5.4	4.3	9.7	± 0.45		1.3	m
5	4.8	4.3	9.1	± 0.32		1.1	m
6	4.5	4.1	8.6	± 0.33		1.1	m
7	5.0	3.4	8.4	± 0.31		1.4	m
8	4.2	3.9	8.1	± 0.22		1.1	m
9	4.2	3.6	7.8	± 0.22		1.2	m
10**	4.9	2.9	7.8	± 0.40		1.7	sm
11	4.0	3.4	7.4	± 0.28		1.2	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with seven cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

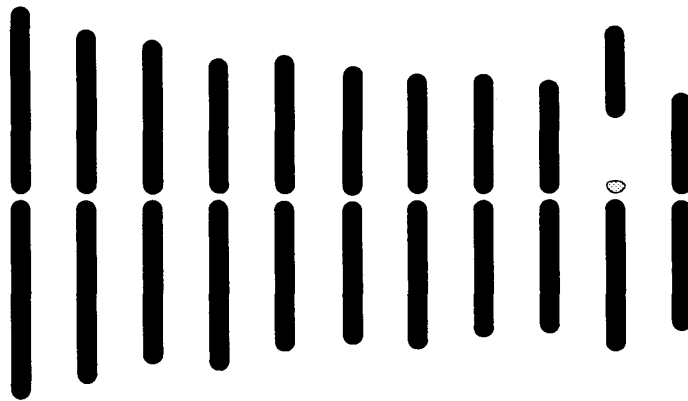


Fig. 10. Idiogram of haploid chromosome complements of *Cryptomeria japonica cv. Measa*. Small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.

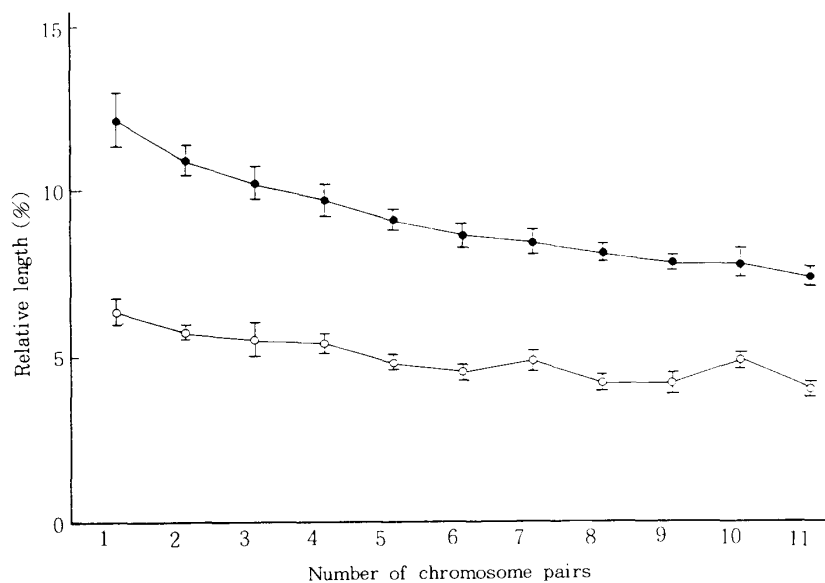


Fig. 11. Karyograph of *Cryptomeria japonica cv. Measa*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; bar, standard deviation.

かった。

メアサの染色体については、これまで、Toda<sup>150)</sup>が、第10染色体には二次狭窄があり、Köpfchenと大きなサテライトが認められること、この第10染色体のみがsm型であり、残り10対の染色体はm型であると報告している。本研究の結果は、第10染色体の長くくびれる特徴的な部分の解釈に違いがみられたことを除けば、Toda<sup>150)</sup>と一致していた。

## 2) 3 倍 体

### c) ウラセバルスギ (*Cr. japonica* cv. *Urasebarusugi*)

ウラセバルスギの体細胞染色体数は $2n=33$ であり、染色体の介在部に二次狭窄をもつ染色体が2本、動原体に近接する部分が長くくびれた中間付随体を有する染色体が3本観察された (Fig. 12)。染色体数が $2n=33$ 、しかも中間付随体を有する染色体が3本あることから、容易に3倍体であることがわかった。染色体長と腕比などの形態的なデータはTable 9に、それに基づいたイデオグラムはFig. 13に示した。第6染色体のみがヘテロな組合せで、3本の第6染色体のうち2本の染色体の短腕に二次狭窄が認められ、残り1本には二次狭窄はなかった。また、中間付随体を有する染色体は、第10染色体であった。染色体のタイプは、第10染色体がsm型、残り10対はm型染色体で、カリオグラフ (Fig. 14) からみると、染色体の長さ (全長) は、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。長腕長は第4、第7染色体とsm型の第10染色体にピークがみられ、これらの染色体の長腕は前後の染色体の長腕に比較して長く、長さでの逆転がみられた。染色体構成の長さのば



Fig. 12. Photomicrograph of *Cryptomeria japonica* cv. *Urasebarusugi*. Arrows indicate the intercalary long constriction. Arrowheads show the secondary constriction.

Table 9. Basic morphometric data on chromosomes of *Cryptomeria japonica* cv. *Urasebarusugi* (triploid)\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.2	5.7	11.8	±	0.45	1.1	m
2	5.7	5.2	10.9	±	0.49	1.1	m
3	5.3	4.9	10.2	±	0.28	1.1	m
4	5.4	4.4	9.8	±	0.25	1.2	m
5	4.7	4.3	9.0	±	0.30	1.1	m
6	4.4	1.3 + 2.9	8.6	±	0.31	1.1	m
7	4.7	3.7	8.3	±	0.27	1.3	m
8	4.3	3.9	8.2	±	0.17	1.1	m
9	4.3	3.7	8.0	±	0.25	1.2	m
10**	4.9	2.9	7.8	±	0.36	1.7	sm
11	4.2	3.3	7.6	±	0.27	1.3	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with seven cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

らつきを示すLSRを計算すると1.6であり、長さのばらつきは小さかった。

ウラセバルスギが3倍体であることは、松田ら<sup>82,83</sup>が、わが国ではじめて明らかにしている。次いで、戸田<sup>151</sup>は本種の核型について、I染色体（第9染色体）がKöpfchenとサテライトからなる付随体染色体であること、この付随体染色体がot型（chromosoma orthotelometricum：端部動原体型）の染色体であり、H染色体（第8染色体）がsm型染色体、残り9対がm型染色体であると報告している。その後、戸田<sup>151</sup>はF染色体（第6染色体）3本のうち2本に二次狭窄が認められること、前報<sup>150</sup>でI染色体とした付随体染色体はJ染色体（第10染色体）であること、

11対の染色体すべてが次中部動原体型染色体であると報告している。佐々木ら<sup>102</sup>は、第11染色体は短腕と長腕の狭窄部が長く伸びたような形態を示す特異な染色体ではあるが、戸田<sup>151,151</sup>が指摘しているようなKöpfchenは認められないこと、第6染色体3本のうち2本の短腕には二次狭窄があること、第11染色体のみが次中部動原体型染色体、残り10対が中部動原体型染色体であると報告している。

それらの結果と、本研究の結果とを比較すると、本研究の結果では動原体に近接した部分が長くくびれた中間付随体を有する染色体は第10染色体で、sm型染色体であることから戸田<sup>151</sup>、佐々木ら<sup>102</sup>とは若干異なった結果となった。しかしながら、佐々木ら<sup>102</sup>が第11染色体としている動原体の部分が長く伸びた特異的な染色体は、同じ論文でウラセバルスギと同じく3倍体で知られるヒノデスギの特異的な染色体を第10染色体としていることから、本研究の第10染色体に該当すると思われた。また、佐々木ら<sup>102</sup>は染色体が比較的短縮した状態のものを観察していることから、長くくびれる特徴的な部分が短縮しており、戸田<sup>151</sup>がKöpfchenと呼ぶ部分が判然としなかったものと解釈された。このことは、前述したように第10染色体の動原体に近接した長くくびれる

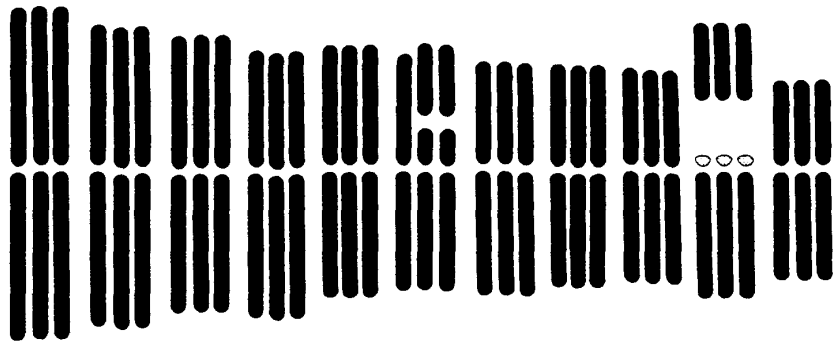


Fig. 13. Idiogram of triploid chromosome complements of *Cryptomeria japonica* cv. *Urusebarusugi*. Small dotted intercalary trabants are not included in chromosome's measurements.

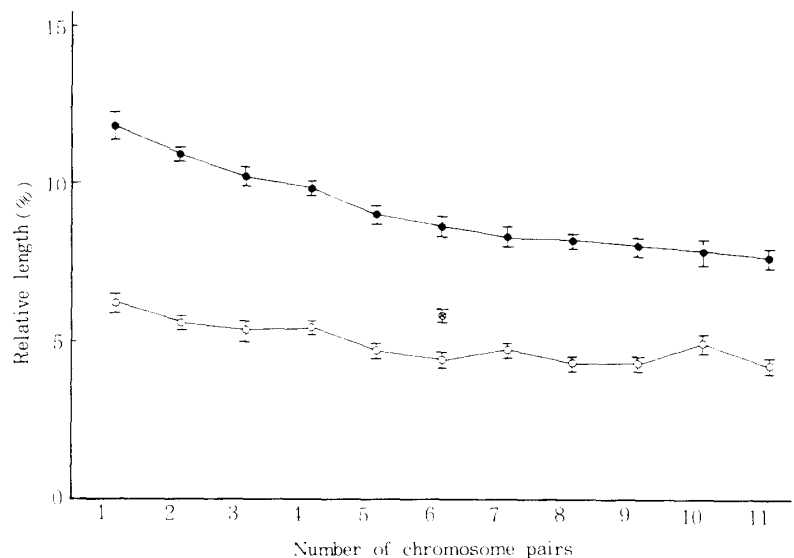


Fig. 14. Karyograph of *Cryptomeria japonica* cv. *Urusebarusugi*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; cross marks, secondary constriction; bar, standard deviation.

部分とその部分に認められる中間付随体は、必ずしも常に一定した形では観察されないことを支持するものと考えられた。

(2). 柳杉 (*Cr. fortunei*)

1) 浙江省産の柳杉

浙江省産の柳杉の体細胞染色体数は  $2n=22$  であり、中間付随体を有する染色体が1対2本観察され、二次狭窄を有するものは観察されなかった (Fig. 15)。染色体の相対長、腕比はTable 10に掲げた通りであり、第10染色体のみがsm型であり、残りはm型染色体であった。

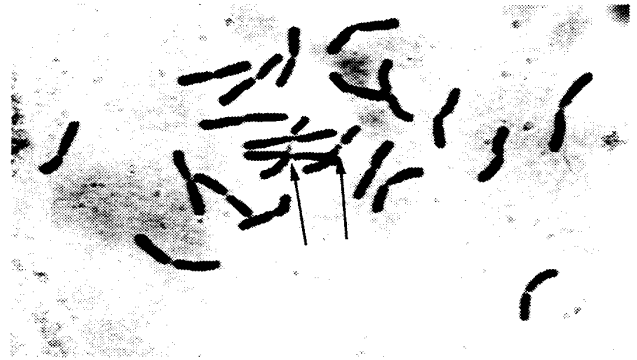


Fig. 15. Photomicrograph of *Cryptomeria fortunei* from Zhe jiang. Arrows indicate the intercalary long constriction.

Table 10. Basic morphometric data on chromosomes of *Cryptomeria fortunei* (from Zhe jiang)\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.4	5.7	12.1	±	0.72	1.1	m
2	5.7	5.2	10.9	±	0.51	1.1	m
3	5.5	4.9	10.3	±	0.46	1.1	m
4	5.3	4.1	9.4	±	0.55	1.3	m
5	4.9	4.5	9.4	±	0.24	1.1	m
6	4.6	4.1	8.7	±	0.25	1.1	m
7	4.7	3.6	8.3	±	0.29	1.3	m
8	4.3	3.8	8.1	±	0.27	1.1	m
9	4.2	3.6	7.8	±	0.27	1.2	m
10**	4.9	2.8	7.8	±	0.38	1.7	sm
11	4.0	3.3	7.3	±	0.64	1.2	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with eight cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

イデオグラムを描くとFig. 16のようになり、中間付随体染色体は第10染色体であった。染色体の長さ(全長)の変化はカリオグラフ (Fig. 17) に示したように、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。長腕長は第7染色体などに小さなピークがみられるが、sm型染色体である第10染色体の部分に比較的大きなピークがみられ、この染色体の長腕は前後の染色体の長腕にくらべ長く、長さが逆転していた。

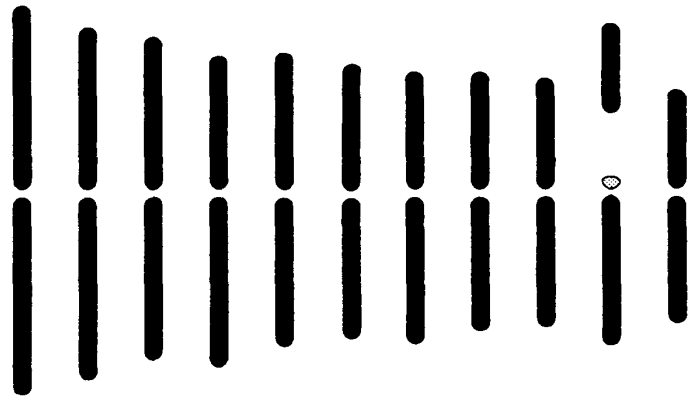


Fig. 16. Idiogram of haploid chromosome complements of *Cryptomeria fortunei* from Zhe jiang. Small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.

浙江省産の柳杉については、これまで染郷ら<sup>128)</sup>が $2n=22$ であり、第2、第6、第10染色体に二次狭窄または異質染色質と認められる帯状構造を報告している。また、この帯状構造について、第2染色体のものは短腕の末端寄りに、第6染色体のものは短腕の動原体寄り、第10染色体のものは短腕の動原体寄りで相同染色体の双方、一方になど3通りに出現し、第10染色体のものは動原体に近接しており多くのスギで観察されるものであると結論づけている。

戸田ら<sup>160)</sup>は10対が中部動原体型、1対が次中部動原体型染色体であり、この次中部動原体型染色体はKöpfchenと付随体を有するJ染色体(第10染色体)であると報告している。本研究の結果は、第10染色体のKöpfchenと付随体の解釈を除けば、ほぼ戸田ら<sup>160)</sup>と一致していた。しかし、染郷ら<sup>128)</sup>が指摘しているような第2、第6染色体での二次狭窄は観察されなかった。

## 2) 江西省産の柳杉

江西省産の柳杉の体細胞染色体数は $2n=22$ であり、中間付随体を有する染色体が1対2本観察され、二次狭窄を有するものは観察されなかった(Fig. 18)。染色体の相対長、腕比はTable 11に掲げた通りであり、第10染色体のみがsm型であり、残りはm型染色体であった。イデオグラムを描くとFig. 19のようになり、中間付随体染色体は第10染色体であった。染色体の長さ(全長)の変化はカリオグラフ(Fig. 20)に示したように、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。長腕長はsm型染色体である第10染色体の部分に1つのピークがみられ、この染色体の長腕は前後の染色体の長腕に比べ長かった。

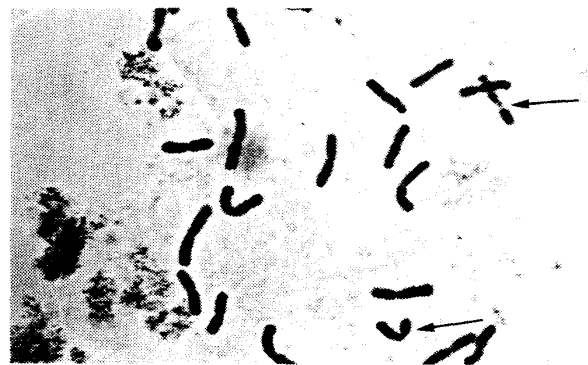


Fig. 18. Photomicrograph of *Cryptomeria fortunei* from Jiang xi. Arrows indicate the intercalary long constriction.

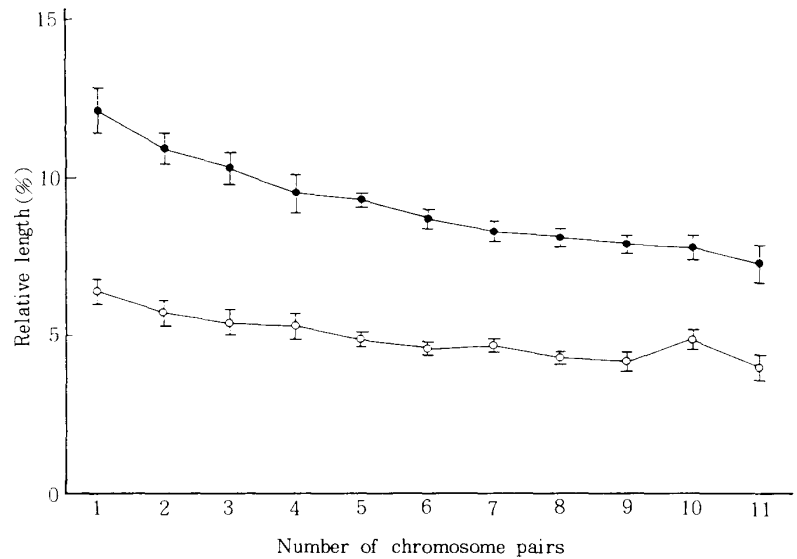


Fig. 17. Karyograph of *Cr. fortunei* from Zhe jiang. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

Table 11. Basic morphometric data on chromosomes of *Cryptomeria fortunei* (from Jiang xi)\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.6	5.7	12.3	±	0.87	1.2	m
2	5.8	5.3	11.1	±	0.61	1.1	m
3	5.2	4.8	10.0	±	0.41	1.1	m
4	5.3	4.3	9.6	±	0.58	1.3	m
5	4.8	4.3	9.1	±	0.33	1.1	m
6	4.4	4.0	8.4	±	0.29	1.1	m
7	4.6	3.6	8.3	±	0.44	1.3	m
8	4.3	3.9	8.1	±	0.25	1.1	m
9	4.2	3.6	7.8	±	0.26	1.2	m
10**	5.0	2.9	7.8	±	0.49	1.7	sm
11	4.0	3.5	7.4	±	0.45	1.2	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with eight cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

江西省産の柳杉については、これまで菊池ら<sup>64)</sup>が $2n=22$ であるが、3倍体、4倍体などが存在することを報告しているが、詳しく核型などに関するものはみられない。今回の観察結果では、10対のm型染色体と1対のsm型染色体から構成されること、sm型染色体は第10染色体であり、中間付随体を有する染色体であることが明らかになった。

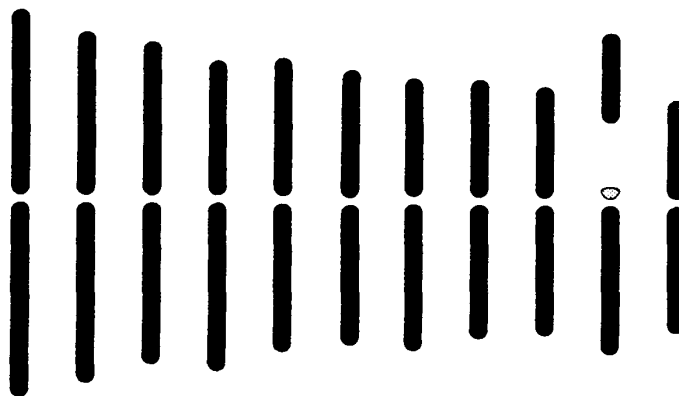


Fig. 19. Idiogram of haploid chromosome complements of *Cryptomeria fortunei* from Jiang xi. Small dotted intercalary trabant is not included chromosome's measurements.

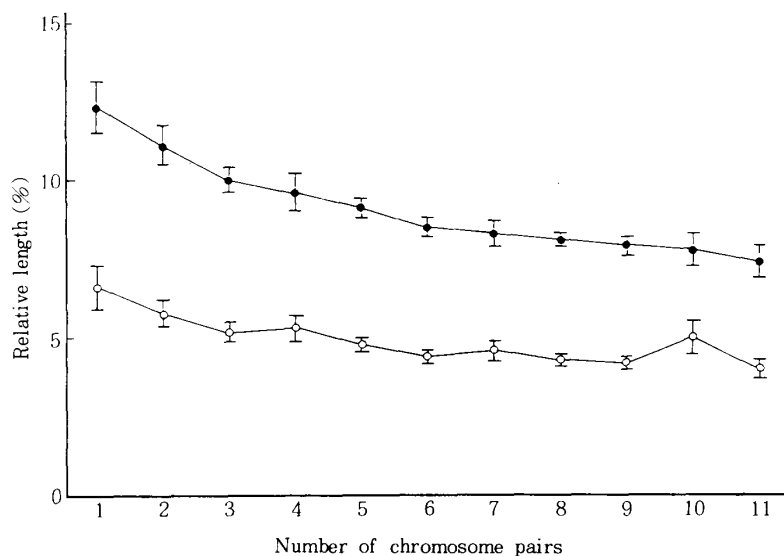


Fig. 20. Karyograph of *Cr. fortunei* from Jiang xi. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

## (3). スギ属に関する考察

これまで、スギに関する染色体および核型については数多くの研究がなされており、1904年の Lawson<sup>75)</sup>による $n=10$ 、 $2n=20$ の報告にはじまる。その後、佐藤<sup>110)</sup>は吉野スギ、秋田スギの染色体数を観察し $n=12$ 、 $2n=24$ と報告している。スギの染色体数が、現在用いられているように $n=11$ 、 $2n=22$ と確定したのは、松本<sup>86)</sup>と Sax<sup>ら</sup><sup>111)</sup>の報告からである。染色体の形態について、松本<sup>86)</sup>は狭窄の中央に存在するV字形の染色体は大体2対、その他の染色体はやや小さく狭窄の一方の腕がやや短いT字形であるが、その中で狭窄のところ著しく伸びたものが1対まれに2対みられることがあると述べている。Sax<sup>ら</sup><sup>111)</sup>は胚乳 (endosperm) 細胞の染色体の観察から11本の染色体は、ほぼ "isobrachial" (同腕状) であることを報告している。Mehra<sup>ら</sup><sup>87)</sup>は22本の染色体は中部ないし、次中部動原体型染色体から構成されており、2対の染色体には目にとまりにくい二次狭窄 (inconspicuous secondary constriction) が観察されると報告している。黒木<sup>72)</sup>は詳しい核型について報告している。それによると第9染色体がsm型、残りはm型であり、二次狭窄および付随体を有する染色体はないとされている。その後、スギの染色体に関する報告はしばらくみられなかったが、松田<sup>ら</sup><sup>82, 83)</sup>のウラセバルスギおよびヒノデスギの3倍体の報告に端を発し、数多くの研究が行われるようになった。それら多くの研究の中で、本研究での第10染色体の特徴的な長くくびれる部位について、戸田<sup>158)</sup>はKöpfchen、連結糸、付随体と解釈している。それに対して、佐々木<sup>ら</sup><sup>102)</sup>はKöpfchenは認められず長くくびれ (長くくびれた一次狭窄) と解釈している。今回の観察では、戸田<sup>158)</sup>が指摘するKöpfchenの部分は常に一定した形ではなく、時には佐々木<sup>ら</sup><sup>102)</sup>が指摘するように染色体の腕部とKöpfchenの間のくびれを識別できない場合や、いくつかの小粒に分れて観察される場合などもあった。したがって、この小粒部分は、染色体の腕部と解釈するよりは、むしろ染色体の腕部に付随している部分として解釈することがより妥当と思われる。一般に、染色体の二次狭窄のくびれが長く細い糸状に伸びた先端についている小粒部分を付随体と解釈するが、これとは逆に染色体の中央部分、あるいは一次狭窄についている小粒を中間付随体と称している<sup>91)</sup>。本研究で供試したスギ属で観察された第10染色体の動原体に近接した長くくびれる特徴的な部分は、まさにこの中間付随体に該当するものと考えられる。このような解釈に基づくと、この

第10染色体は「長腕—一次狭窄—付随体—連結糸 (二次狭窄)—短腕」となり、一般に考えられる付随体染色体が一次狭窄の部分で切断し、逆位を生じた形と考えると理解しやすかった。

本研究に用いたスギ3品種 (イワオスギ、メアサ、ウラセバルスギ) の核型をカリオグラフで比較すると、Fig. 21に示したようになる。ややばらつきはあるものの、第6染色体の二次狭窄の有無を除けば、3品種の染色体の構成には大きな違いはなかった。すなわち供試3品種のうち染色体数

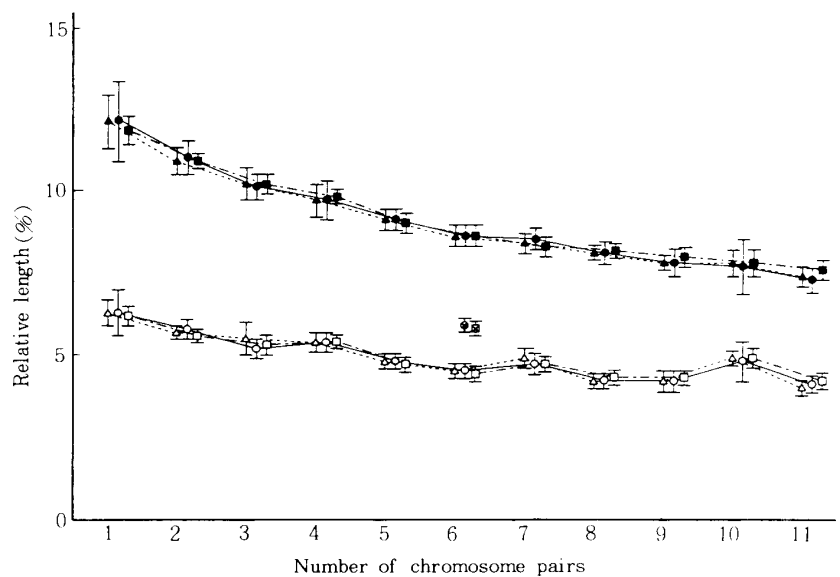


Fig. 21. Karyographical comparison of three cultivars in *Cryptomeria japonica*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; cross marks, secondary constriction; bar, standard deviation; triangle, *Measa*; circle, *Iwaosugi*; square, *Urusebarusugi*.



に違いのない2倍体のイワオスギとメアサの両品種間では、第6染色体の二次狭窄の有無以外に両品種を識別することができないといえる。このことは、第6染色体の二次狭窄が核型によるスギ品種間の識別には重要な意味を有していると解釈させる。特に、本研究に供試した3品種などが含まれる九州地方のスギさし木品種では、古くは500年以前からさし木に移されたものもあり、クローンコンプレックス (clone complex) ではなく、多くの単一クローンからなるさし木品種が知られる<sup>90)</sup>。このような単一クローンからなる品種では、それぞれの品種によって第6染色体の二次狭窄の有無が決まっていることが容易に想像される。このスギの第6染色体の二次狭窄について、戸田<sup>149,158)</sup>、染郷ら<sup>127)</sup>は第6染色体2本のいずれにも二次狭窄が認められるもの、片方だけに認められるもの、いずれにも認められないものがあり、それぞれをⅡ型、Ⅰ型、0型と称している。さらに、染郷ら<sup>127)</sup>によればイワオスギとされる精英樹の佐賀3号(第6染色体の二次狭窄を片方だけにもつⅠ型)を自殖させると、そのF<sub>1</sub>にはⅡ型、Ⅰ型、0型が分離・独立の法則通り、ほぼ1:2:1に分離すると報告している。また、この報告と同様、戸田<sup>148)</sup>もⅠ型は、Ⅱ型と0型との交配によって生じたと推測している。このように、第6染色体の二次狭窄が分離・独立の法則通りに遺伝するならば、スギ品種の中でも、単一クローンはⅡ型、Ⅰ型、0型のいずれか1タイプ、すなわち固有の第6染色体の二次狭窄を保持していることになる。したがって、イワオスギ、メアサ、ウラセバルスギのようにスギさし木品種の中でも自然交配集団ではなく、単一クローンについては、第6染色体の二次狭窄がⅡ型、Ⅰ型あるいは0型のいずれかの固有のタイプであり、このタイプ分けを用いることにより、品種間のある程度の系列化が可能と考えられる。

また、第6染色体の二次狭窄が分離・独立の法則に従って遺伝するならば、この二次狭窄を用いた育種学的な利用としては、精英樹などの交配実験が考えられる。交配親に用いる精英樹の第6染色体の二次狭窄はⅡ型、Ⅰ型、0型のいずれかであるから、あらかじめ交配親の第6染色体の有無を調べておくと、染郷<sup>127)</sup>が指摘しているようにF<sub>1</sub>への分離比は簡単に求められる。したがって、F<sub>1</sub>の第6染色体の二次狭窄を確認することにより花粉の汚染 (contamination) の有無や程度、あるいは実際に目的通りに正しい交配が行われたかどうかを容易に知ることがある程度可能ともいえる。

今回、観察した浙江省、江西省の2産地の柳杉の染色体の構成をカリオグラフで比較するとFig. 22に示したようになった。2産地間の染色体構成に大きな違いはみられなかった。柳杉にもスギ同様第10染色体に中間付随体が観察されることから、この2産地の柳杉とスギ3品種の中で第6染色体に二次狭窄が観察されなかったメアサとをカリオグラフで比較してみると、3者の染色体構成に大きな違いは認められなかった (Fig. 23)。また、これまでの柳杉の染色体に関する戸田ら<sup>161)</sup>、染郷<sup>128)</sup>の報告によれば、安徽省産の柳杉には第6染色体の二次狭窄をⅠ型にもつ個体があるとされている。このことは、柳杉の自然集団内にもスギ同様、第6染

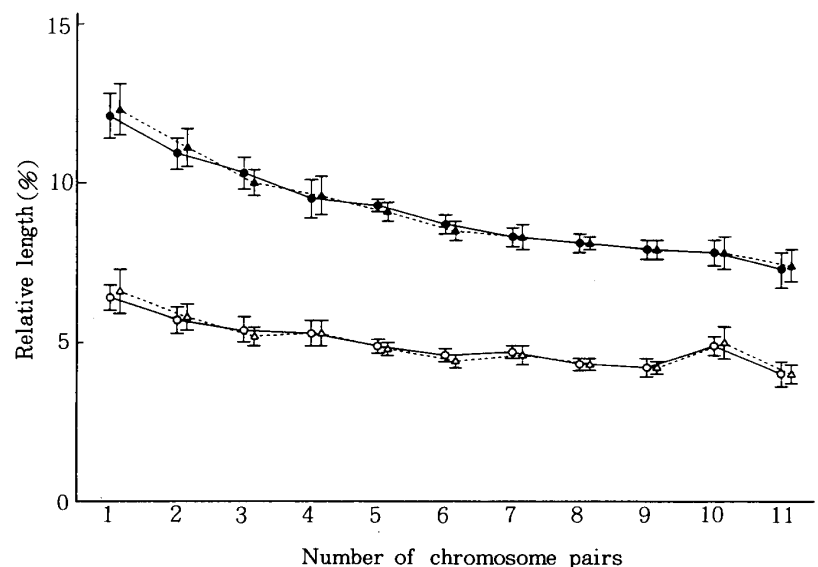


Fig. 22. Karyographical comparison of *Cr. fortunei* from Zhejiang and from Jiangxi. Solid marks, total length; open marks, long arm length; circle, from Zhejiang; triangle, from Jiangxi.

染色体の二次狭窄をⅡ型、Ⅰ型、0型にもつ個体が混在していることを予想させる。もし、この予想が正しいものとするれば、染色体の構成、二次狭窄の有無など、核型では柳杉とスギとは識別できないといえる。柳杉とスギの分類については、今後さらに詳細な外部形態の比較あるいは両種間の交雑結果などを待たなければ結論づけられないことはいうまでもないが、少なくとも、本研究の結果では2種を明確に識別することはできなかった。また、スギ3品種内では、第6染色体の二次狭窄の有無、2倍体と3倍体の違いを除けば、核型の変異は極めて小さく、品種間の差異を見出すことはできなかった。

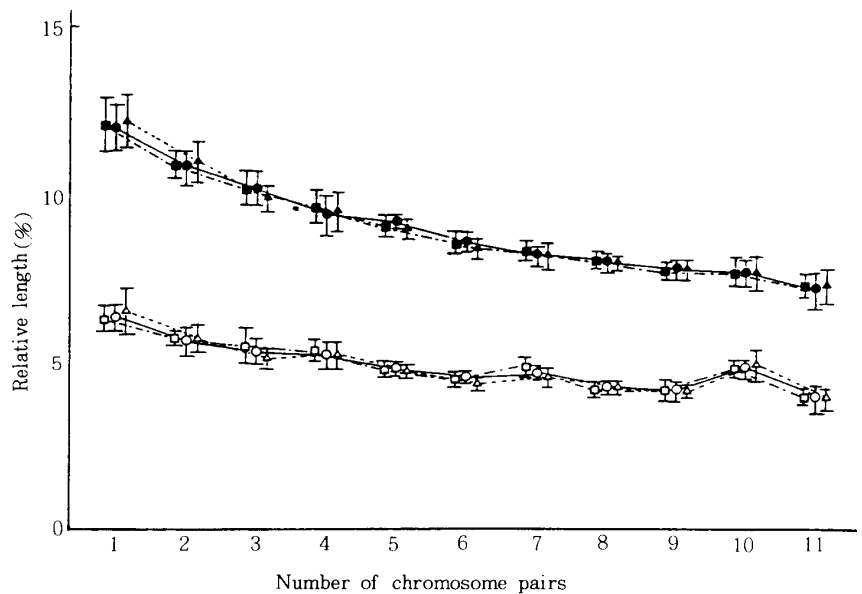


Fig. 23. Karyographical comparison of *Cryptomeria japonica* cv. *Measa*, and *Cryptomeria fortunei* from Zhe jiang and from Jiang xi. Solid marks, total length; open marks, long arm length; bar, standard deviation; triangle, Jiang xi; circle Zhe jiang; square, *Measa*.

### 3. コウヨウザン (*Cunninghamia*) 属

#### (1) コウヨウザン (*Cu. lanceolata*)

コウヨウザンの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、1対2本の染色体の短腕の末端部に付随体が観察された (Fig. 24)。この付随体の部位は、必ずしも常に一定の形ではなく、連結系の部分が長くのびている場合には、付随体が比較的小さく、逆に連結部分が短縮している場合には、付随体が多少とも大きくみえる傾向があった (Fig. 25)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 12に示した。第4、および第7染色体がsm型、残り9対の染色体はm型であったが、第8染色体は極めてsm型に近いm型染色体であった。また、第9染色体から最短の第11染色体の腕比も比較的sm型に



Fig. 24. Photomicrograph of *Cunninghamia lanceolata*. Arrows indicate the trabant.

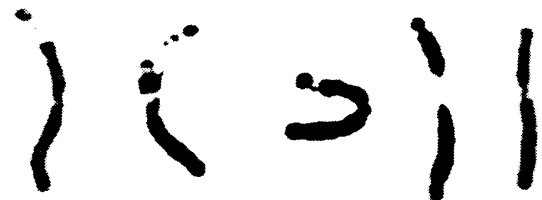


Fig. 25. Different shapes of the chromosome possessed the trabant observed in *Cu. lanceolata*.

Table 12. Basic morphometric data on chromosomes of *Cunninghamia lanceolata*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	7.4	6.8	14.2	± 1.32		1.1	m
2	6.4	5.8	12.2	± 0.69		1.1	m
3	6.0	5.3	11.3	± 0.35		1.1	m
4**	6.8	3.9	10.7	± 0.82		1.7	sm
5	4.9	4.5	9.4	± 0.66		1.1	m
6	4.3	4.0	8.3	± 0.41		1.1	m
7	5.0	3.0	8.0	± 0.50		1.7	sm
8	4.5	2.8	7.3	± 0.34		1.6	m
9	4.0	2.9	6.9	± 0.32		1.4	m
10	3.6	2.6	6.2	± 0.33		1.4	m
11	3.1	2.3	5.4	± 0.36		1.4	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with thirteen cells for each item.

\*\* Length of the trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

近い値であった。Table 12の値に基づき染色体の構成を模式的にイデオグラムに表すとFig. 26に、カリオグラフに表示するとFig. 27のようになった。染色体の短腕の末端に付随体を有する染色体は第4染色体であった。染色体の長さ(全長)の変化は、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。染色体の長腕長の変化は第4、第7染色体がsm型であることから、この部分にピークがみられ、特に第4染色体の部分では大きな変化を示していた。染色体構成の長さのばらつきを表すLSRを計算すると2.6であり、長さのばらつきは比較的大きかった。

コウヨウザンの染色体数が $n=11$ であることはSugihara<sup>131)</sup>によって、 $2n=22$ であることはMehraら<sup>87)</sup>、Hanら<sup>28,29)</sup>が報告している。また、Mehraら<sup>87)</sup>には詳細なデータの記載はないが、すべての染色体が中部動原体型(median centromere)

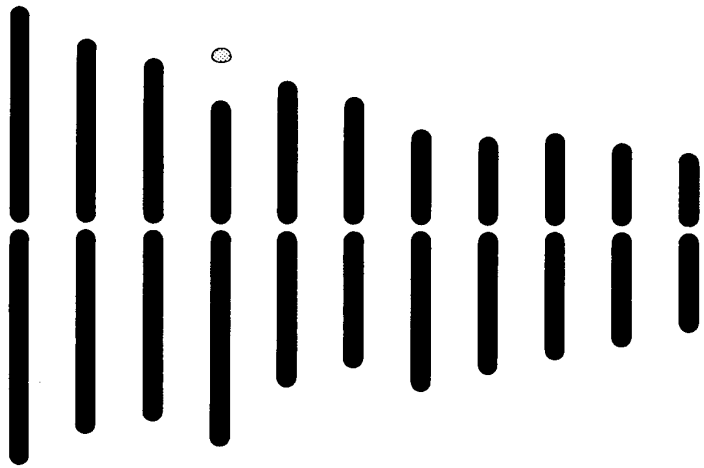


Fig. 26. Idiogram of haploid chromosome complements of *Cunninghamia lanceolata*. Small dotted trabant is not included in chromosome's measurements.

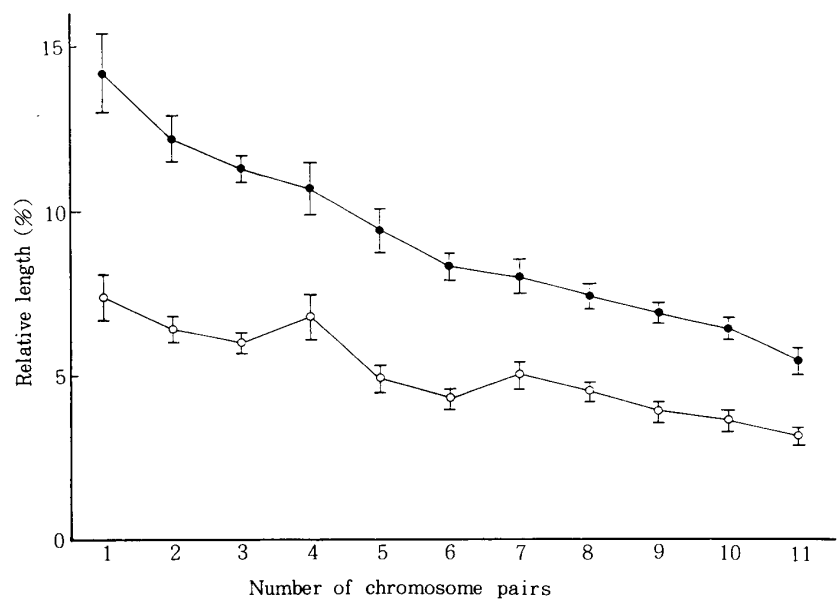


Fig. 27. Karyograph of *Cu. lanceolata*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

あるいは次中部動原体型 (submedian centromere) から構成されていること、4本の染色体に二次くびれがみられ、しかもそのうち2本の染色体には縦に並んだ付随体 (tandem satellite) があることを報告している。Hanら<sup>20)</sup>は、コウヨウザンの付随体の形を大形付随体、小形付随体など5タイプに分け、そのタイプによる産地内変異と20産地間の識別を試みている。その結果、各産地内には幾つかのタイプが混在しており、厳密には産地間の識別が行えなかったと報告している。今回の結果では、第4染色体短腕末端部の付随体は、必ずしも一定の形を示さず、染色体の短縮の程度あるいは付随体と染色体の腕部を結びつけている連結糸の短縮の程度などにより、微妙にその形が違って観察された。すなわち、細胞分裂にともなう細胞内の微妙な生理的な条件の違いによって、連結糸および付随体の形に観察上の違いのあることも考えられた。また、Mehraら<sup>21)</sup>ではさらに2本の染色体に二次狭窄を観察しているが、今回は第4染色体にのみ付随体が観察された。

## (2) ランダイスギ (*Cu. konishii*)

ランダイスギの体細胞染色体数は、 $2n=22$ であり、1対2本の染色体の短腕の末端部に付随体が観察された (Fig. 28)。また、この付随体の形はコウヨウザン同様必ずしも一定ではなかった。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 13に示した。染色体のタイプは第4、および第7染色体がsm型、残り9対はm型であったが、第8染色体は極めてsm型に近いm型であった。また、第9染色体から最短の第11染色体の腕比も比較的大きく、とくに第10、第11染色体の腕比はsm型に近い傾向にあった。Table 13の値に基づき染色体の構成を模式的に表すとFig. 29に、カリオグラフで表示

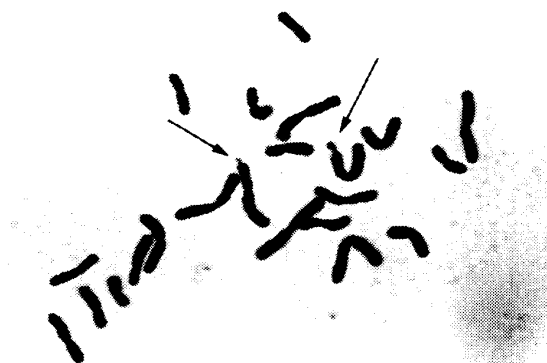


Fig. 28. Photomicrograph of *Cunninghamia konishii*. Arrows indicate the trabant.

Table 13. Basic morphometric data on chromosomes of *Cunninghamia konishii*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	7.4	6.8	14.2	±	0.86	1.1	m
2	6.6	5.7	12.3	±	0.69	1.2	m
3	5.9	5.2	11.1	±	0.62	1.1	m
4**	6.6	4.0	10.6	±	0.57	1.7	sm
5	4.9	4.4	9.3	±	0.49	1.1	m
6	4.4	3.9	8.3	±	0.32	1.1	m
7	5.0	3.0	8.0	±	0.15	1.7	sm
8	4.4	2.7	7.1	±	0.40	1.6	m
9	3.8	3.1	6.9	±	0.34	1.3	m
10	3.9	2.6	6.5	±	0.35	1.5	m
11	3.3	2.4	5.7	±	0.60	1.4	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with sixteen cells for each item.

\*\* Length of the trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

するとFig. 30のようになった。染色体の短腕の末端に付随体をもつ染色体は第4染色体であった。染色体の長さ(全長)の変化は、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。長腕長は、第4、第7染色体がsm型であることから、この部分で長さの逆転を示すピークがみられ、とくに第4染色体の長さでの逆転は大きかった。染色体構成の長さのばらつきを示すLSRを計算すると2.5であり、長さのばらつきは比較的大きかった。

ランダイスギについては染色体数が $n=11$ であることが知られているが<sup>41)</sup>、核型については報告されていない。今回の観察結果では、9対のm型、2対のsm型(第4、第7染色体)からなっており、第4染色体短腕の末端部に付随体が観察された。また、この第4染色体の付随体は、必ずしも一定の形を示さなかった。

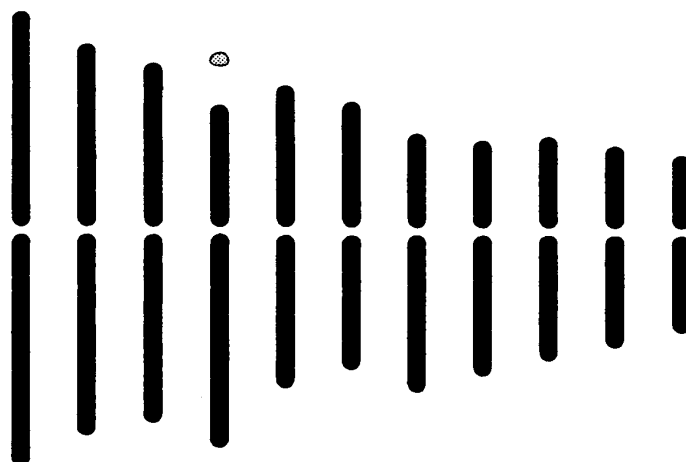


Fig. 29. Idiogram of haploid chromosome complements of *Cunninghamia konishii*. Small dotted trabant is not included in chromosome's measurements.

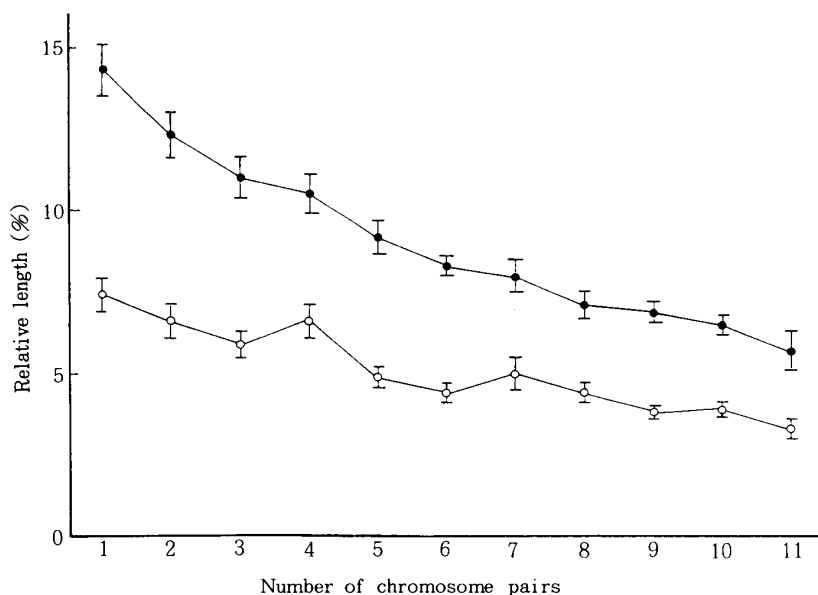


Fig. 30. Karyograph of *Cu. konishii*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

### (3) コウヨウザン属に関する考察

コウヨウザンとランダイスギの染色体数は、いずれも $2n=22$ であり、第4染色体短腕の末端に付随体を有していた。また、両種の染色体のタイプ構成は、2対のsm型と9対のm型からなっているなど、かなり類似していた。この両種の染色体の構成をカリオグラフで比較してみると(Fig. 31)、多少のばらつきはあるものの、ほぼ両種の染色体の構成には大きな違いはなく、核型の上から両種を識別することは困難と思われた。

両種の分類について、劉<sup>78)</sup>、劉<sup>79)</sup>などランダイスギをコウヨウザンの変種とすることもある。また、呂<sup>80)</sup>によれば、コウヨウザンとランダイスギの2種をパーオキシダーゼザイモグラムから識別することは困難であったとされている。本研究の結果とそれら3研究者の指摘とを考えあわせると、本属のコウヨウザンとランダイスギの2種の分類については、もう一度細胞分類学的、あるいは外部形態的に再検討が必要とも考えられた。

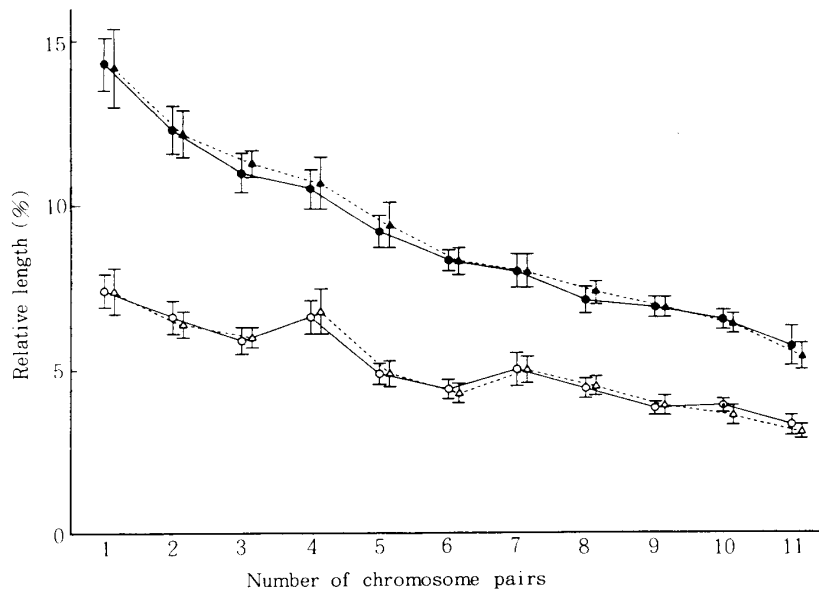


Fig. 31. Karyographical comparison of *Cu. lanceolata* and *Cu. konishii*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; triangle, *Cu. lanceolata*; circle, *Cu. konishii*.

#### 4. タイワンスギ (*Taiwania*) 属

本属は、タイワンスギ (*T. cryptomerioides*) 1属1種である。

タイワンスギの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、中間付随体を有する染色体が1対2本観察された (Fig. 32)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 14に掲げた。第4、第8、第9、第10染色体の4対がsm型染色体、残り7対がm型染色体であった。また、第11染色体の腕比も1.5とsm型に近かった。形態的な値に基づき染色体の構成を模式的にイデオグラムに描くとFig. 33に示したようになった。中間付随体を有する染色体は第4染色体であった。染色体構成の長さの変化をカロオグラフと比較すると (Fig. 34)、染色体の全長は最長染色体から最短染色体までほぼ漸減していた。長腕長の変化では第4、第8染色体にピークがあり、それらの染色体で長さの逆転があることがわかった。染色体構成の長さのばらつきを示すLSRを求めると2.3であり、長さのばらつきは比較的大きかった。

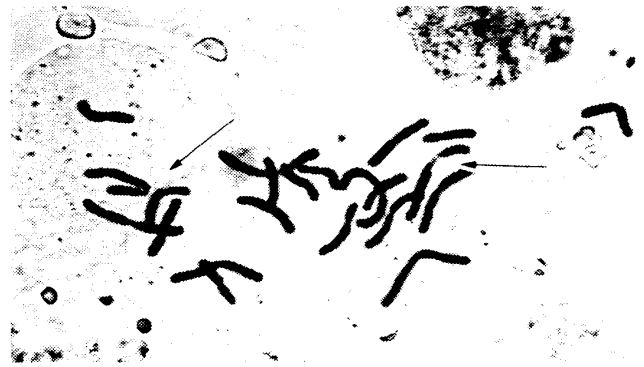


Fig. 32. Photomicrograph of *Taiwania cryptomerioides*. Arrows indicate the intercalary long constriction.

本種の染色体数について、これまでにSax<sup>111)</sup>と松本<sup>86)</sup>が体細胞染色体数を $2n=22$ であると報告している。また、松本は、染色体の構成について、22個のうち2対ほどV字形染色体があり、他はほとんどV字形に近いT字形で、狭窄の長い染色体が1対みられること、大抵の染色体は狭窄のところに乳首 (interkalares Köpfchen) のごときものを有しており、これの無いものはわずか4個ぐらいしかないと述べている。それらの報告と本研究の結果とを比較すると、染色体数についてはこれまでの結果と一致していた。また、松本が指摘している「狭窄の長い染色体」は第4染色体であり、中間付随体を

Table 14. Basic morphometric data on chromosomes of *Taiwania cryptomerioides*\*

Number of chromosome pairs	Relative length				Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	± S.D.**		
1	7.2	6.5	13.7	± 0.88	1.1	m
2	6.2	5.5	11.6	± 0.57	1.1	m
3	5.6	5.1	10.7	± 0.32	1.1	m
4**	6.9	3.6	10.5	± 0.56	1.9	sm
5	5.1	4.5	9.6	± 0.37	1.1	m
6	4.6	4.0	8.6	± 0.42	1.2	m
7	4.5	3.5	8.0	± 0.51	1.3	m
8	5.3	2.5	7.9	± 0.44	2.1	sm
9	4.5	2.5	7.1	± 0.28	1.8	sm
10	4.2	2.2	6.4	± 0.40	1.9	sm
11	3.5	2.4	6.0	± 0.49	1.5	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with ten cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

有することがわかった。松本が指摘した大部分の染色体にみられたKöpfchenに該当するものは、認められなかった。

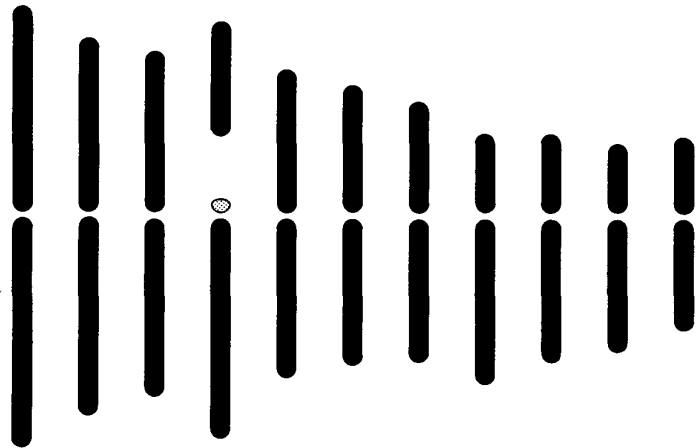


Fig. 33. Idiogram of haploid chromosome complements of *Taiwania cryptomerioides*. Small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.

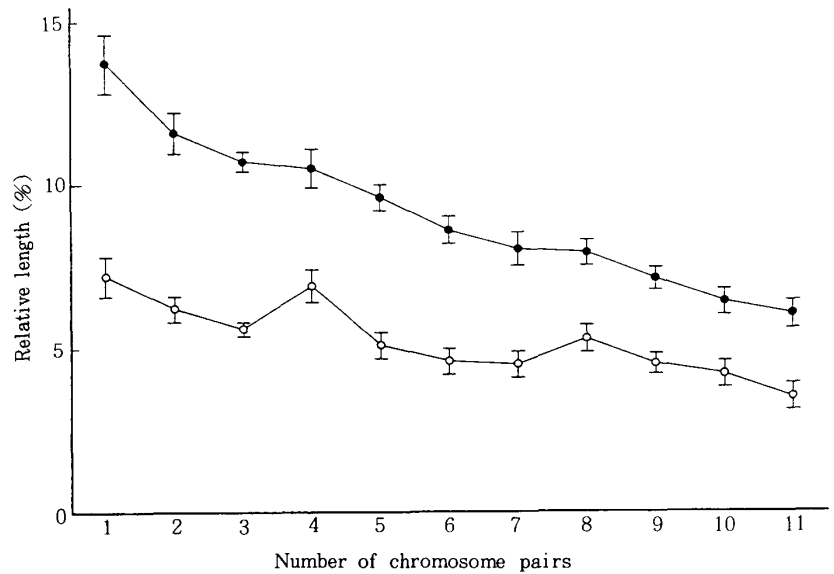


Fig. 34. Karyograph of *Taiwania cryptomerioides*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

5. ラクウショウ (*Taxodium*) 属

(1) ラクウショウ (*Ta. distichum*)

ラクウショウの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、中間付随体を有する染色体が1対2本観察された (Fig. 35)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 15の通りであり、第10染色体のみがsm型、残り10対はm型染色体であった。Table 15の値に基づき染色体を模式的に描くとFig. 36のようになった。中間付随体を有する染色体は、第10染色体であった。カリオグラフはFig. 37に示したようになり、

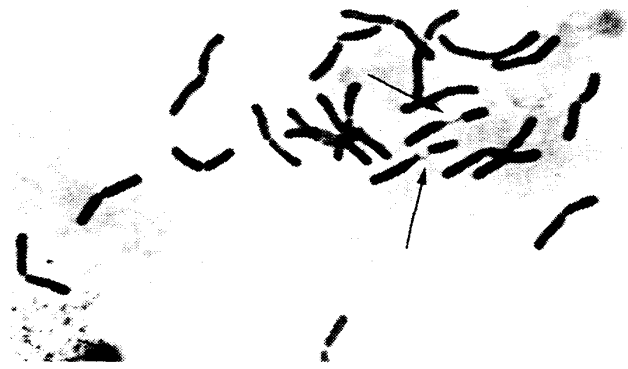


Fig. 35. Photomicrograph of *Taxodium distichum*. Arrows indicate the intercalary long constriction.

Table 15. Basic morphometric data on chromosomes of *Taxodium distichum*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	+ S.D.***			
1	6.5	5.9	12.4	± 0.86		1.1	m
2	5.8	5.2	11.0	± 0.52		1.1	m
3	5.5	4.9	10.4	± 0.36		1.1	m
4	5.3	4.5	9.9	± 0.42		1.2	m
5	5.2	3.8	9.0	± 0.86		1.4	m
6	4.6	4.0	8.6	± 0.30		1.2	m
7	4.7	3.6	8.3	± 0.29		1.3	m
8	4.3	3.6	8.0	± 0.37		1.2	m
9	4.1	3.6	7.6	± 0.36		1.1	m
10**	4.8	2.8	7.6	± 0.54		1.7	sm
11	3.8	3.4	7.2	± 0.43		1.2	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with eleven cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

染色体の全長は最長染色体から最短染色体まで漸減していた。長腕長の変化は第10染色体がsm型であることから、ここに比較的大きなピークがみられた。LSRを計算すると1.7であることから、染色体構成の長さのばらつきは小さかった。

本種の染色体数について、Coker<sup>14,15)</sup>、Saxら<sup>11)</sup>、Stebbins<sup>13)</sup>などの報告がみられ、 $n=11$ 、 $2n=22$ であることが明らかにされているが、詳しい核型に関する報告はない。本研究の結果、1対のsm型、10対のm型染色体から構成され、sm型染色体は第10染

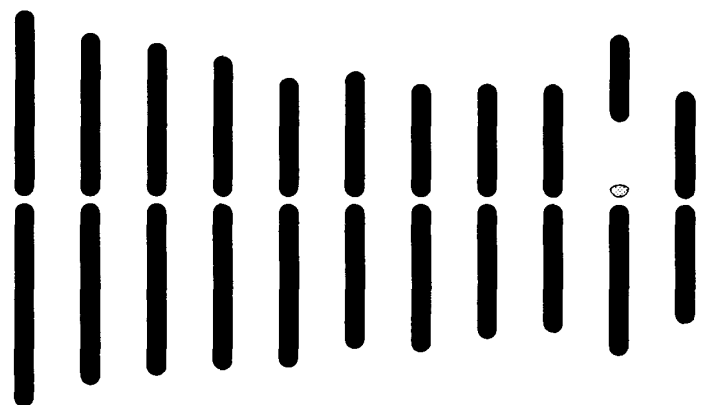


Fig. 36. Idiogram of haploid chromosome complements of *Taxodium distichum*. Small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.



色体であり、この染色体は中間付随体を有する染色体であることがわかった。

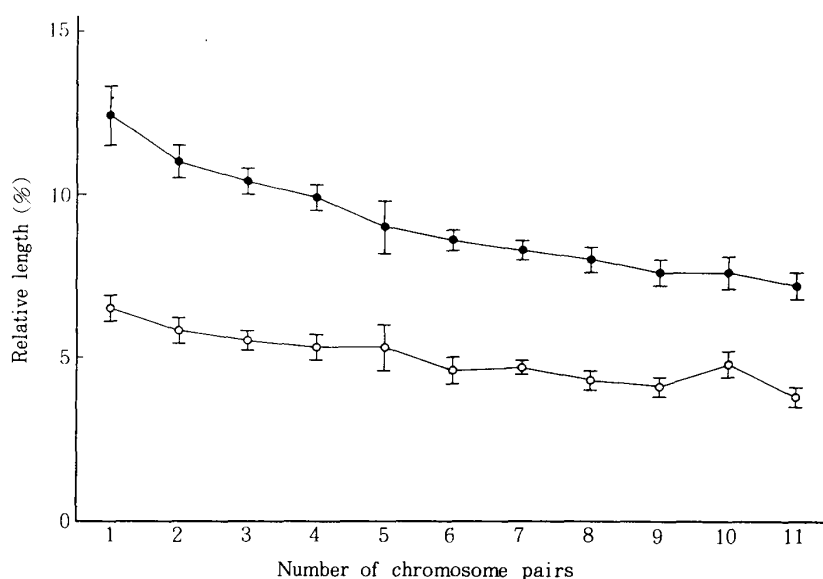


Fig. 37. Karyograph of *Taxodium distichum*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

## (2) メキシコラクウショウ (*Ta. mucronatum*)

前述のようにメキシコラクウショウの実生個体は、発芽直後に立枯病となり、わずか1個体のみしか育成することができず、この1個体を供試した。

供試個体の体細胞染色体数は $2n=33$ であり、中間付随体を有する染色体が3本観察された (Fig. 38)。したがって、この供試1個体は3倍体であることが容易に想像された。染色体の形態的なデータはTable 16に掲げた。11対のすべての染色体はm型であった。しかし、第10染色体の腕比は1.6と極めてsm型に近かった。染色体を模式的にイディオグラムとして描くとFig. 39のようになった。中間付随体を有する染色体は第10染色体であった。カリオグラフはFig. 40の通りであり、染色体の全長は最長染色体から最短染色体まで漸減しており、LSRも1.6と最長染色体と最短染色体の長さのばらつきも小さかった。長腕長の変化は第4、第6、第10染色体で小さなピークがみられ、長さが逆転していた。

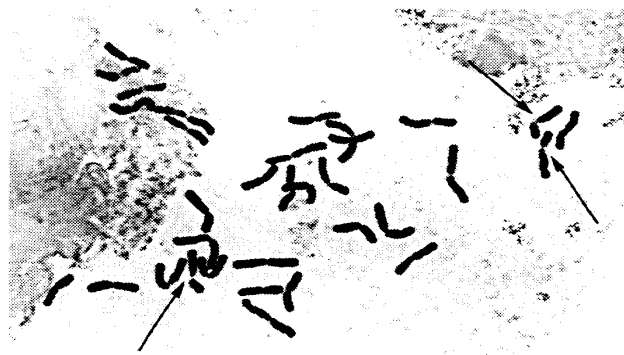


Fig. 38. Photomicrograph of *Taxodium mucronatum* (triploid). Arrows indicate the intercalary long constriction.

本種の体細胞染色体について、Mehraら<sup>87)</sup>は $2n=22$ であり、20本の染色体は中部動原体型 (median) あるいは次中部動原体型 (submedian) であり、そのうち2本には次端部に二次狭窄 (subterminal secondary constriction) が認められること、また、残り1対2本は次端部動原体型 (subterminal) であり、しかも動原体部分が異常と考えるほど幾分大きい (exaggerated) ことを報告している。このMehraらの染色体のタイプ分けは、(短腕長)  $\geq$  (1/2長腕長) を中部あるいは次中部動原体型、(短腕長)  $<$  (1/2長腕長) を次端部あるいは端部動原体型染色体としていることから、第II章、第4節で述べた篠遠<sup>122)</sup>に該当していた。これを本研究で用いたLevanら<sup>77)</sup>のタイプ分けに計算しなおすと、中部～次中部動原体型はm型～

Table 16. Basic morphometric data on chromosomes of *Taxodium mucronatum* (triploid)\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.1	5.7	11.8	±	0.44	1.1	m
2	5.7	5.2	10.9	±	0.28	1.1	m
3	5.5	4.9	10.4	±	0.32	1.1	m
4	5.6	4.0	9.6	±	0.48	1.4	m
5	4.8	4.3	9.1	±	0.38	1.1	m
6	5.1	3.6	8.7	±	0.30	1.4	m
7	4.6	3.8	8.4	±	0.28	1.2	m
8	4.4	3.8	8.2	±	0.25	1.2	m
9	4.4	3.5	7.9	±	0.27	1.3	m
10**	4.7	3.0	7.7	±	0.26	1.6	m
11	3.9	3.5	7.4	±	0.39	1.1	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with twelve cells for each item.  
 \*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.  
 \*\*\* S.D. means standard deviation.

sm型に、次端部動原体型はsm~st型と考えられる。

今回の観察結果では10対すべてがm型染色体であったが、Mehraら<sup>87)</sup>が「動原体部分が異常と思えるほど幾分大きい」と指摘している染色体、すなわち動原体に近接した部分が長くくびれる特徴的な染色体はm型でありながら極めてsm型に近いタイプであることから、本研究の結果とMehraら<sup>87)</sup>の結果とは、概ね一致しているといえた。また、本研究では動原体に近い部分が長くくびれる特徴的な染色体は第10染色体であることが新たにわかった。

本研究に供試した本種の個体数は、前述のようにわずか1個体のみで、しかもこの個体は2倍体ではなく、3倍体であった。また、単なる偶然である可能性は否定できないが、興味ある事実として、この供試個体と同時に播種、育苗した残りの個体すべては立枯病により生育できなかった

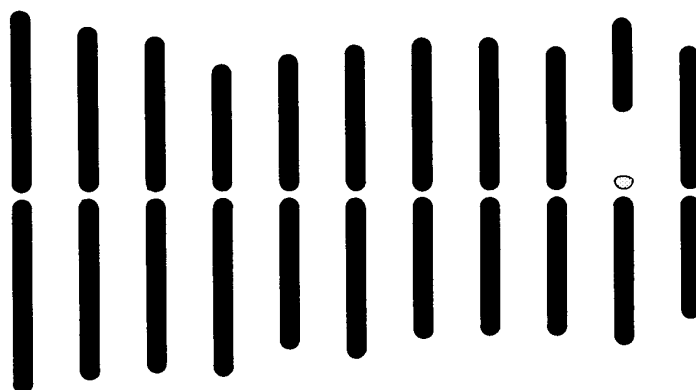


Fig. 39. Idiogram of triploid chromosome complements of *Taxodium mucronatum*. Small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.

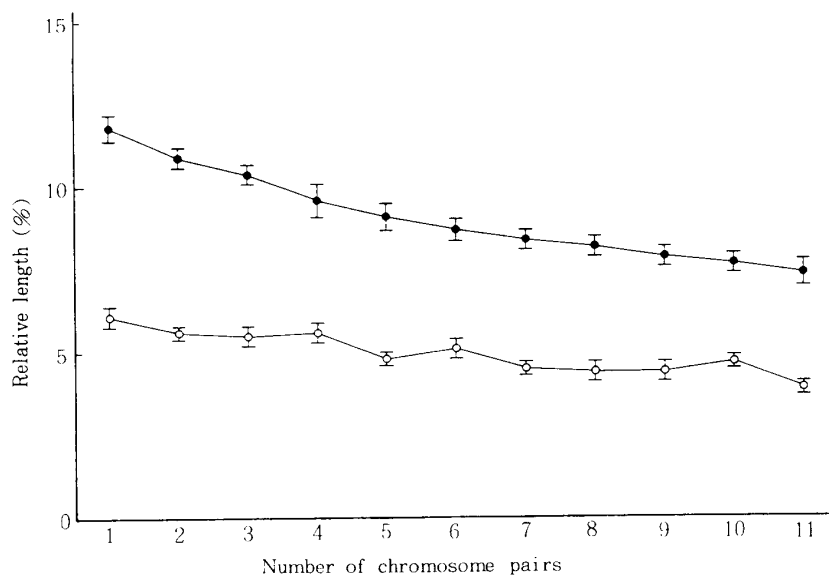


Fig. 40. Karyograph of *Taxodium mucronatum*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

にもかかわらず、この3倍体個体のみが立枯病にかかることなく生育したことがあげられる。このことは、2倍体ではなく、3倍体であったことが、耐立枯病性（立枯病抵抗性）を発現させた可能性を考えさせ、林木の抵抗性育種を考えるとき、何らかの有用な指針を暗示しているように思われる。

### (3) ラクウショウ属に関する考察

ラクウショウとメキシコラクウショウの染色体数はいずれも $2n=22$ であり、第10染色体は動原体に近接する部分が長くくびれる特徴的な染色体であった。両種の染色体の構成をカリオグラフで比較するとFig. 41のようになった。ややばらつきがみられるものの、染色体の全長では両種に大きな差異は認められなかった。長腕長では、第5、第6染色体に比較的大きな差異が認められた。この長腕でみると、ラクウショウの第6染色体の長腕がメキシコラクウショウの第5染色体の長腕に該当し、ラクウショウの第5染色体の長腕がメキシコラクウショウの第6染色体の長腕に該当したような長さになっていた。短腕の長さではラクウショウの第4染色体の短腕がメキシコラクウショウの第5染色体の短腕に、ラクウショウの第5染色体の短腕がメキシコラクウショウの第6あるいは第7染色体の短腕に、ラクウショウの第6染色体の短腕がメキシコラクウショウの第4染色体の短腕などに該当しているともみなせた。これらのことは、ラクウショウとメキシコラクウショウの種の分化の過程で、染色体の相互転座あるいは切断・欠失・挿入などの染色体上の構造変化が生じた可能性を示唆することを考えさせた。

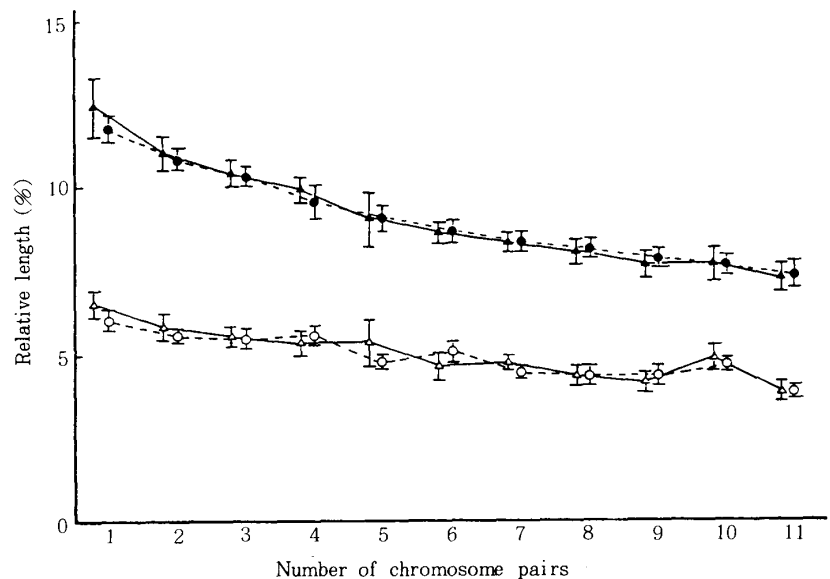


Fig. 41. Karyographical comparison of *T. distichum* and *T. mucronatum*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; circle, *T. distichum*; triangle, *T. mucronatum*.

### 6. スイショウ (*Glyptostrobus*) 属

本属はスイショウ (*G. pensilis*) 1属1種である。

スイショウの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、中間付随体を有する染色体が1対2本観察された (Fig. 42)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 17に、その値に基づき染色体構成を模式的に描くとFig. 43のようになった。中間付随体を有する染色体は第9染色体であり、腕比1.6と極めてsm型に近いm型染色体であった。残り10対の染色体も、そのタイプはすべてm型であったが、第5染



Fig. 42. Photomicrograph of *Glyptostrobus pensilis*. Arrows indicate the intercalary long constriction.

Table 17. Basic morphometric data on chromosomes of *Glyptostrobus pensilis*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.6	5.7	12.3	±	1.17	1.2	m
2	5.9	5.1	11.0	±	0.67	1.2	m
3	5.5	4.8	10.3	±	0.42	1.1	m
4	5.1	4.6	9.7	±	0.54	1.1	m
5	5.6	4.0	9.6	±	0.56	1.4	m
6	5.0	3.7	8.7	±	0.48	1.3	m
7	4.5	3.8	8.3	±	0.35	1.2	m
8	4.2	3.7	7.9	±	0.33	1.1	m
9**	4.6	3.0	7.6	±	0.85	1.6	m
10	4.2	3.3	7.5	±	0.44	1.3	m
11	3.8	3.1	6.9	±	0.29	1.2	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with thirteen cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

色体などは比較的腕比が大きく sm型に近い値をもっていた。染色体の長さの変化をカリオグラフに示すと (Fig. 44)、染色体の全長は最長染色体から最短染色体まで漸減していた。LSRを計算すると1.8であることから、染色体の長さのばらつきの程度はさほど大きくはなかった。長腕長の変化は、sm型に近い値を示した第5、第9染色体にピークがみられ、この部分で長さの逆転が認められた。

スイショウの染色体数については、これまで報告がなく、馬場ら<sup>1)</sup>が体細胞の染色体数は2n=22であり、しかも動原体に近接した部分が長くくびれる特徴的な染色体が1対2本あることをはじめて報告した。本研究の結果、動原体に近接した部分が長くくびれ中間付随体を有する染色体は第9染色体であり、sm型に近いm型、残り10対の染色体のタイプでもm型であることが明らかになった。

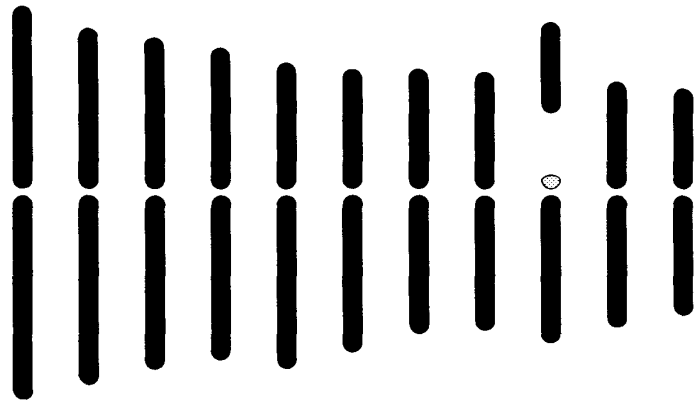


Fig. 43. Idiogram of haploid chromosome complements of *Glyptostrobus pensilis*, small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.

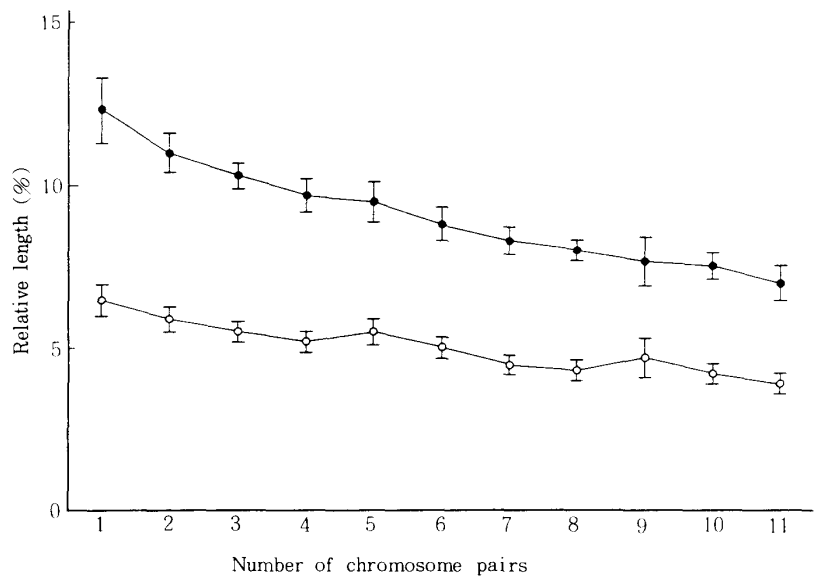


Fig. 44. Karyograph of *Glyptostrobus pensilis*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

7. セコイアメスギ (*Sequoia*) 属

本属はセコイアメスギ (*S. sempervirens*)

1属1種である。

セコイアメスギの体細胞染色体はFig. 45に示した。染色体数が多く容易に解析を試みる事が極めて困難であり、解析細胞数は3細胞にとどまった。染色体数は $2n=66$ であり、6本の染色体の末端部分に付随体が確認できた。これら66本の染色体を組合せると、66本はそれぞれ6本ずつ11のグループに分けることができ、6倍体と考えられた。このように6倍体と考えると、染色体の基本数は $x=11$ となる。したがって、染色

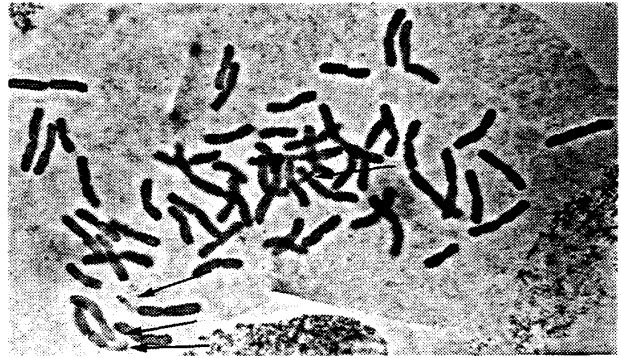


Fig. 45. Photomicrograph of *Sequoia sempervirens* ( $2n=66$ , hexaploid). In this figure, only 61 chromosomes (4 chromosomes passed the trabant) observed. Arrows indicate the trabant.

Table 18. Basic morphometric data on chromosomes of *Sequoia sempervirens*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.4	5.9	12.3	±	0.86	1.1	m
2	5.8	5.3	11.1	±	0.47	1.1	m
3	5.8	4.6	10.3	±	0.48	1.3	m
4**	6.2	4.1	10.3	±	0.76	1.5	m
5	5.0	4.6	9.6	±	0.49	1.1	m
6	4.5	4.1	8.6	±	0.39	1.1	m
7	5.1	3.2	8.3	±	0.35	1.6	m
8	4.7	3.3	8.0	±	0.36	1.5	m
9	4.1	3.7	7.8	±	0.60	1.1	m
10	4.3	3.1	7.4	±	0.33	1.4	m
11	3.2	2.9	6.1	±	0.51	1.1	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with three cells for each item.

\*\* Length of the trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

体の相対長、腕比などの形態的なデータ (Table 18) およびその値に基づいた染色体構成のイデオグラム (Fig. 46) の表示は、半数染色体構成 (haploid chromosome complements) ではなく、基本染色体構成 (basic chromosome complements)、すなわち1倍性染色体構成 (monoploid chromosome complements) とすることとした。Fig. 46に示したイデオグラムから明らかなように付随体は第4染色体短腕の末端に位置していた。染色体のタイプは、この第4染色体を含めず

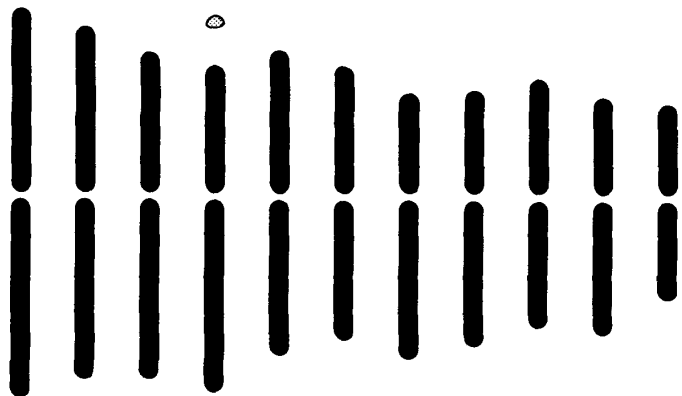


Fig. 46. Idiogram of basic chromosome complements of *Sequoia sempervirens*. Small dotted trabant is not included in chromosome's measurements.

べてm型であった。しかしながら、第4、第7、第8染色体の腕比は1.5~1.6と極めてsm型に近い値を示し、第3、第10染色体の腕比も比較的大きかった。カリオグラフはFig. 47に示した通りである。染色体の全長では、第3染色体と第4染色体の間にはほとんど長さの差がみられなかった。また、第10染色体と最短の第11染色体の間の傾きが急なことから、この2染色体間の長さの差は比較的大きかった。LSRを計算すると、2.0であり、染色体構成の長さのばらつきも大きい傾向にあった。

セコイアメスギの染色体については、これまでいくつかの研究が試みられている<sup>16,29,107,112,130</sup>。これらの研究のなかで、核型について言及しているのはSaylarら<sup>112</sup>のみである。それによれば、セコイアメスギのゲノム (genome) は、染色体のわずかな長さの違いによってAおよびBのゲノムに分けられ、「2 A + 1 B」の構成になっていると報告している。平吉ら<sup>107</sup>はPMCの第一分裂の染色体対合では「2 VI + 7 IV + 13 II」であるいは「2 VI + 2 IV + 23 II」などが観察され、Stebbins<sup>130</sup>によれば「3 VI + 3 IV + 18 II」のほか2 VIなども確認されると述べている。Saylarら<sup>112</sup>に従えば、ゲノム構成は「2 A + 1 B」であるから体細胞では「A A A B B」であり、これが還元分裂で対合するならば4価染色体を形成することはあっても、6価染色体を形成することはないものと思われる。しかしながら、平吉ら<sup>107</sup>、Stebbins<sup>130</sup>に従えば、その数は少ないにせよ6価染色体が形成されることから、同質6倍体の可能性が強いものと考えられる。また、もし完全な同質6倍体ではないものと仮定しても、6価染色体が形成されることから、Saylarら<sup>112</sup>が指摘するBゲノムは、Aゲノムと異なるゲノムではなく、Aゲノムに類似、すなわちAゲノムとほぼ同種のゲノムと考えることがより妥当だと思われる。このように考えるならば、本研究の結果のように66本の染色体は、6本ずつ11グループに分けられることになり、染色体の基本数も $x=11$ と考えて差し支えないことになる。また、本セコイアメスギが同質6倍体であるならば、同質3倍体からの染色体の倍加により同質6倍体が形成されたことになる。本来稔性をもたない3倍体が染色体の倍加により6倍体となることによって稔性がもたらされたと解釈でき、不稔性の3倍体ではなく、稔性をもった6倍体へと染色体の倍加を生じたことから、本種は絶滅することなく、今日まで残存し得たとも考えることができよう。

## 8. セコイアオスギ (*Sequoiadendron*) 属

本属はセコイアオスギ (*S. giganteum*) 1属1種である。

セコイアオスギの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、中間付随体を有する染色体が1対2本観察された (Fig. 48)。染色体の相対長・腕比などの形態的なデータは、Table 19に、その値に基づき染色体構成を模式的に描くとFig. 49のようになった。染色体のタイプは第9染色体のみがsm型、残り10対はm型染色体であったが、第7染色体の腕比は1.6と極めてm型に近い値であり、第4染色体の腕比も1.4と比較的大きかった。中間付随体を有する染色体は、第11染色体つまり最短染色体であった。染色体構成の長さの変化をカリオグラフにするとFig. 50の通りになった。染色体の全長は、最長染色体から第10染

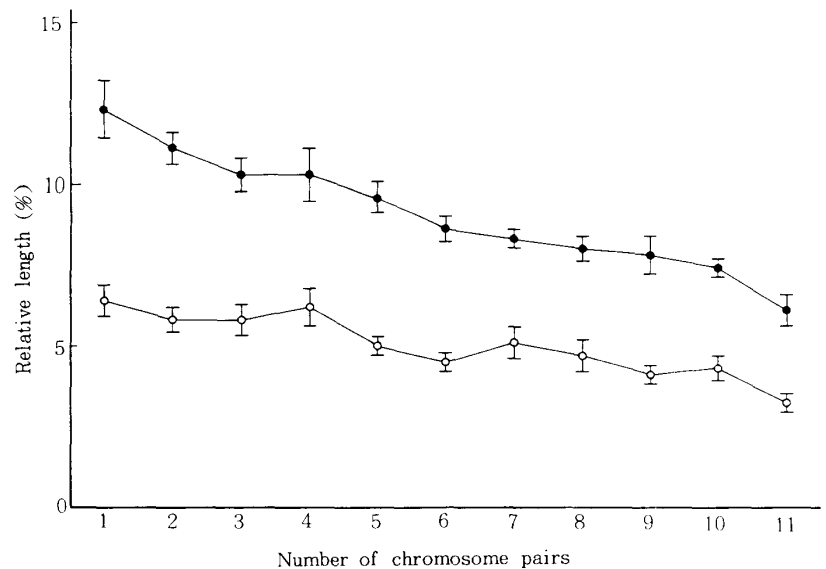


Fig. 47. Karyograph of *Sequoia sempervirens*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

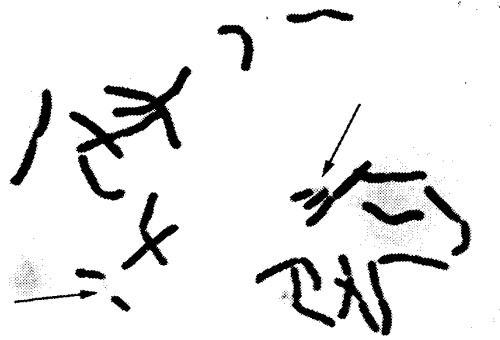


Fig. 48. Photomicrograph of *Sequoiadendron giganteum*. Arrows indicate the intercalary long constriction.

Table 19. Basic morphometric data on chromosomes of *Sequoiadendron giganteum*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.***		
1	6.5	6.1	12.6	±	0.39	1.1	m
2	5.9	5.2	11.1	±	0.43	1.1	m
3	5.6	5.0	10.6	±	0.33	1.1	m
4	5.8	4.2	10.0	±	0.30	1.4	m
5	4.9	4.3	9.2	±	0.29	1.2	m
6	4.7	3.9	8.6	±	0.25	1.2	m
7	5.1	3.3	8.3	±	0.15	1.6	m
8	4.5	3.3	8.1	±	0.23	1.3	m
9	4.9	2.9	7.8	±	0.19	1.7	sm
10	4.1	3.5	7.6	±	0.20	1.2	m
11**	3.4	2.7	6.1	±	0.29	1.3	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with ten cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

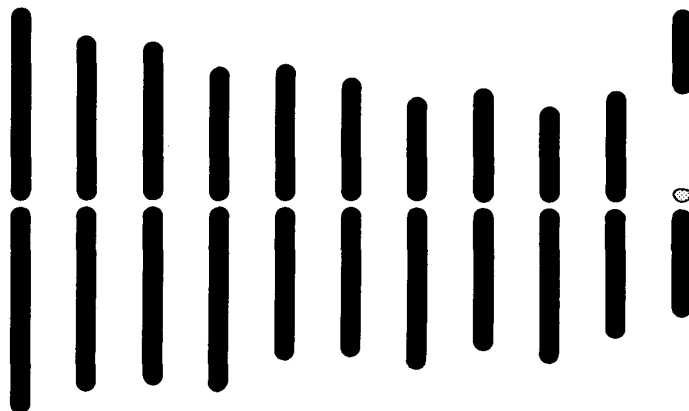


Fig. 49. Idiogram of haploid chromosome complements of *Sequoiadendron giganteum*. Small dotted intercalry trabant is not included in chromosome's measurements.

色体まで漸減していたが、第10染色体から最短染色体の第11染色体への変化は大きかった。長腕の長さでは、m型でありながら腕比が大きい第4、第7染色体とsm型である第9染色体にピークがあり、前後の染色体の長腕との長さの逆転がみられた。LSRを計算すると2.1であることから、染色体構成の長さのばらつきも比較的大きい傾向にあった。

セコイアオスギの核型について、Jensenら<sup>56)</sup>は詳しいデータを記載していないが、10対が中部あるいは次中部型、残り1対は次端部動原体型染色体であることを報告している。黒木<sup>73)</sup>は、7対の中部動原体型と4対の次中部動原体型染色体から構成されるとし、Schlarbaumら<sup>113)</sup>は、1対のsm型（第10染色体）と10対のm型染色体から構成されていると述べている。前2者のものは篠遠<sup>122)</sup>の染色体のタイプ分けに基づくので、本研究で用いたタイプ分けに計算しなおすと、Jensenら<sup>56)</sup>の構成は10対がm型、1対がsm型と推測され、黒木<sup>73)</sup>のものは9対のm型、2対のsm型（第7、第9染色体）となった。本研究の結果では、sm型は第9染色体1対のみであり、この染色体については黒木の指摘と一致していた。Schlarbaumら<sup>56)</sup>は第10染色体がsm型であると指摘しているが、観察細胞数がわずか1細胞であることから、本研究の第9染色体にあたるものと解釈された。黒木はもう1対のsm型を第7染色体に認めているが、今回はこの染色体の腕比が1.6と極めてsm型に近いm型染色体としてタイプ分けされた。また、黒木は二次狭窄や付随体を有する染色体はないと述べているが、Schlarbaumらは第11染色体の動原体に近い中央部分がわずかに染色されるか、負の異常凝縮（negative heteropycnosis）を示し、必ずしも形が一定しない特徴的な染色体であることを指摘している<sup>56)</sup>。本研究の結果、この特徴的な長くくびれる部分は、Schlarbaumらの指摘と同様に必ずしも一定しないことがわかった。また、この部位の解釈としては、中間付随体と理解するのが妥当であると思われる。

### 9. メタセコイア (*Metasequoia*) 属

本属はメタセコイア (*M. glyptostrobooides*) 1属1種である。

メタセコイアの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、動原体に近接する部分が特徴的に長くくびれる中間付随体を有する染色体が3対6本観察された (Fig. 51)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 20に、その値に基づき染色体構成を模式的に描くとFig. 52に掲げたようになった。Fig. 52から明らかなように中間付随体を有する染色体は第8、第9、第11染色体であった。

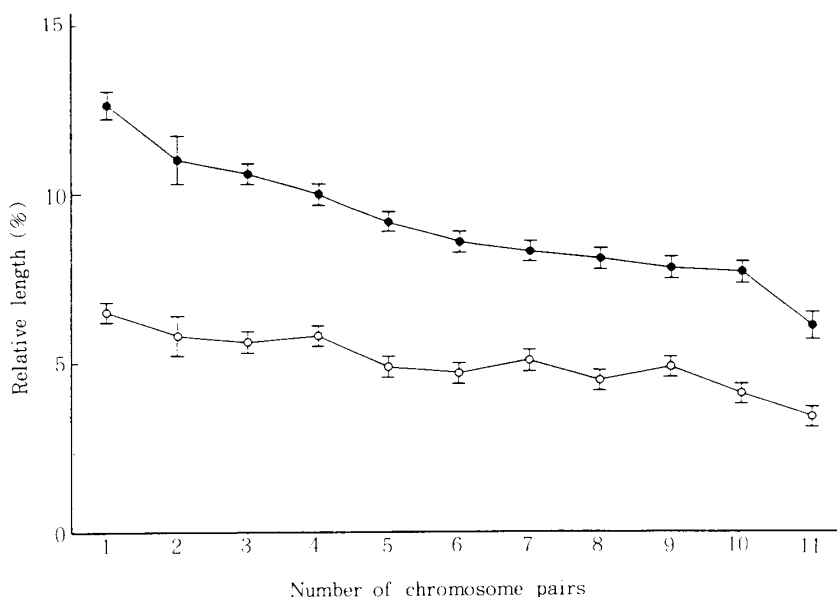


Fig. 50. Karyograph of *Sequoiadendron giganteum*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

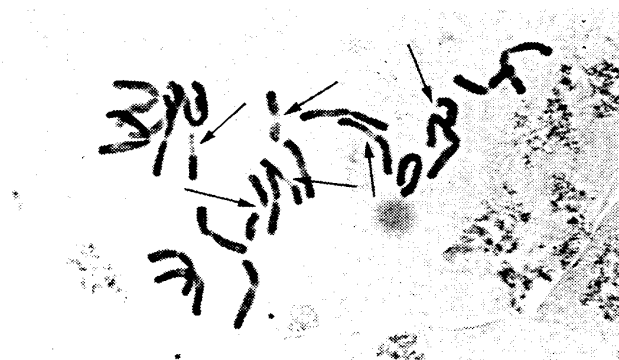


Fig. 51. Photomicrograph of *Metasequoia glyptostrobooides*. Arrows indicate the intercalary long constriction.



Table 20. Basic morphometric data on chromosomes of *Metasequoia glyptostroboides*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.***		
1	6.5	5.9	12.4	±	0.64	1.1	m
2	5.9	5.3	11.2	±	0.67	1.1	m
3	5.4	4.7	10.1	±	0.40	1.1	m
4	5.7	4.1	9.8	±	0.35	1.4	m
5	5.0	4.4	9.4	±	0.46	1.2	m
6	4.8	4.0	8.8	±	0.41	1.2	m
7	5.0	3.5	8.5	±	0.42	1.4	m
8**	4.5	3.7	8.2	±	0.35	1.2	m
9**	4.6	3.4	8.0	±	0.58	1.4	m
10	4.2	3.6	7.8	±	0.45	1.2	m
11**	3.2	2.6	5.9	±	0.39	1.2	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with ten cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of these pairs are not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

染色体のタイプは11対の染色体全てm型であつが、第4、第7、第9染色体の腕比は、いずれも1.4と比較的大きな値であつた。染色体の長さの変化をカリオグラフに示すと (Fig. 53)、染色体の全長は最長染色体から第10染色体まで漸減していたが、第10染色体から最短染色体の第11染色体への変化は比較的急激であつた。LSRを計算すると2.1であり、染色体構成の長さのばらつきも比較的大きかつた。長腕の長さの変化では、m型でありながら比較的腕比の大きい第4、第7、第9染色体の部分に小さなピークがあり、長さの逆転がみられた。

メタセコイアの染色体について、Stebbins<sup>130)</sup>は $2n=22$ であることを述べ、黒木ら<sup>71)</sup>は、2対の次中部型と9対の中部動原体型染色体から構成され (本研究でのタイプ分けに換算しなおすと、11対すべてがm型染色体)、二次狭窄や付随体を有する染色体はないと報告しており、ほぼ本研究の結果と一致していた。

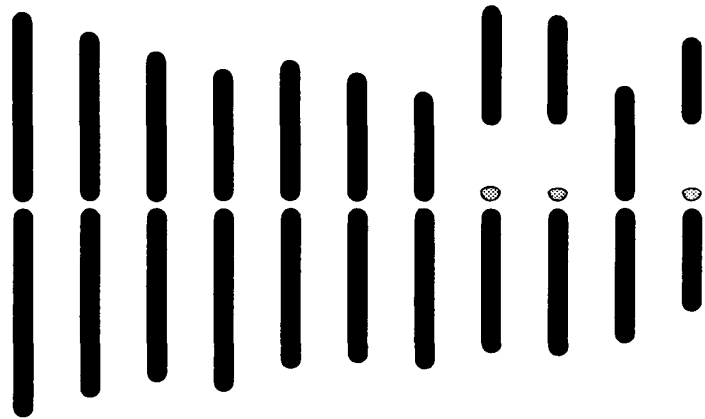


Fig. 52. Idiogram of haploid chromosome complements of *Metasequoia glyptostroboides*. Small dotted intercalary trabants are not included in chromosome's measurements.

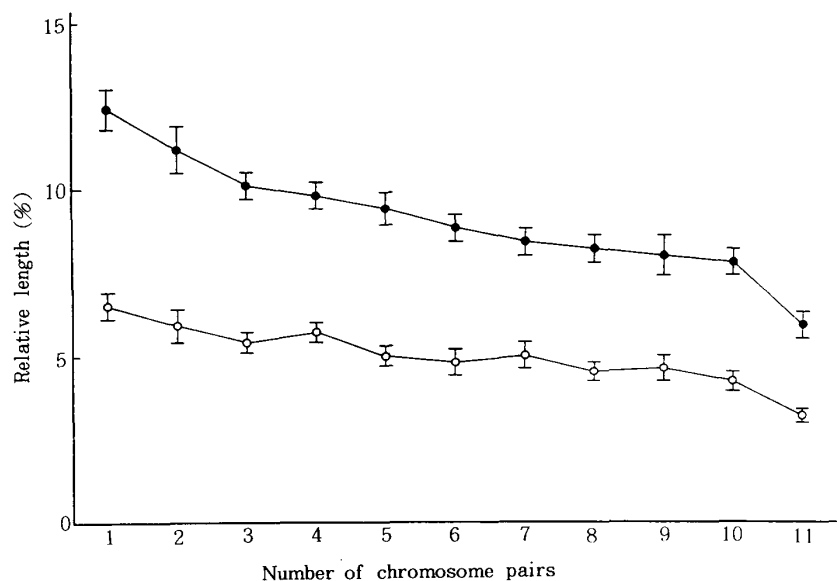


Fig. 53. Karyograph of *Metasequoia glyptostroboides*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

Schlarbaumら<sup>113)</sup>には、詳しいデータの記載はないが、セコイアオスギの染色体との比較のなかで、セコイアオスギにみられた動原体に近接した部分が負の異常凝縮を示す染色体がメタセコイアには2対ある可能性を指摘している。本研究の結果では、動原体に近接した部分が長くくびれる特徴的な染色体は3対認められ、このことはこれまでに報告されたことのない新しい知見であった。

## 第2節 スギ科以外の核型分析

### 1. イチイ (Taxaceae) 科

#### (1) イチイ (*Taxus cuspidata*)

イチイの体細胞染色体数は $2n=24$ であり、動原体に近接した部分に中間付随体を有する染色体が1対2本観察された (Fig. 54)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 21に、その値に基づき染色体を模式的に描くとFig. 55のようになった。染色体のタイプは第1染色体から第10染色体までがm型、残り2対の第11染色体と第12染色体はsm型であったが、第8染色体の腕比は1.5と比較的sm型に近い値をもっていた。中間付随体を有する染色体は、第8染色体であった。染色体構成の長さの変化をカリオグラフで表すと、Fig. 56のようになった。染色体の全長では、最長染色体から第11染色体まで漸減していたが、最短の第12染色体は極めて短いことから、第11染色体から第12染色体への長さの変化は急激であった。LSRを計算すると2.4であり、染色体構成の長さのばらつきも大きかった。長腕の長さは、腕比の値が比較的大きい第8、第11染色体にピークがみられ、第

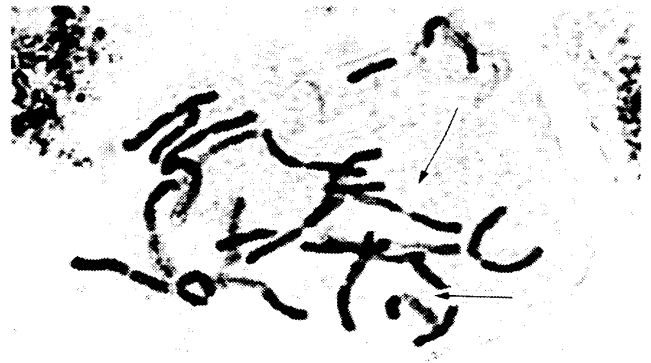


Fig. 54. Photomicrograph of *Taxus cuspidata*. Arrows indicate the intercalary long constriction.

Table 21. Basic morphometric data on chromosomes of *Taxus cuspidata*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	5.7	5.1	10.9	±	0.56	1.1	m
2	5.4	4.9	10.3	±	0.46	1.1	m
3	5.3	4.6	9.9	±	0.54	1.1	m
4	4.9	4.4	9.4	±	0.56	1.1	m
5	5.1	3.9	8.9	±	0.79	1.3	m
6	4.6	4.1	8.7	±	0.52	1.1	m
7	4.3	3.7	8.1	±	0.46	1.2	m
8**	4.8	3.2	8.0	±	0.65	1.5	m
9	4.2	3.4	7.6	±	0.41	1.2	m
10	4.0	3.1	7.2	±	0.44	1.3	m
11	4.4	2.2	6.6	±	0.75	2.0	sm
12	3.3	1.3	4.5	±	0.91	2.7	sm

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with nine cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

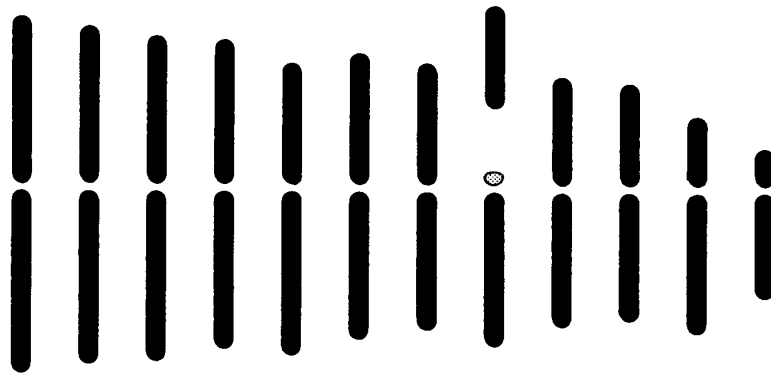


Fig. 55. Idiogram of haploid chromosome complements of *Taxus cuspidata*. Small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.

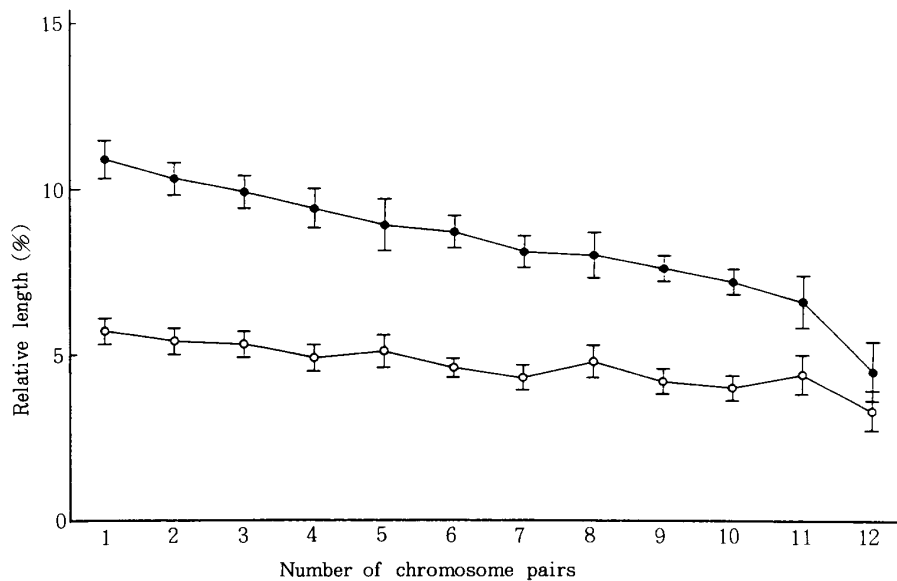


Fig. 56. Karyograph of *Taxus cuspidata*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

5染色体にも小さなピークが認められ、この3染色体の部分で前後の染色体と長さが逆転していた。

イチイの染色体について、Dark<sup>16)</sup>は $2n=24$ であり、同属の *T. baccata*, *T. canadensis*についても $n=12$ 、 $2n=24$ であることを報告している。Sax<sup>11)</sup>は、胚乳細胞の観察でイチイを含む4種 (*T. baccata*, *T. cuspidata*, *T. Hunnewelliana*, *T. media*) の染色体数は $n=12$ であり、1本の染色体はほぼ末端部に動原体が位置する不等腕染色体 (heterobrachial chromosome) であると述べている。天野<sup>1)</sup>はイチイの染色体数は $n=12$ 、 $2n=24$ であり、PMCの第1分裂では12対の2価染色体を形成すること、最短染色体の動原体は末端に位置することが考えられることを報告している。Mehra<sup>88)</sup>は、種名の記載はないがイチイ属の染色体数は $n=12$ であり、その染色体構成は中部動原体型が10本、端部動原体型染色体が2本であると報告している。

日詰ら<sup>43)</sup>も種名は明らかにしていないが、イチイ属の染色体構成は中部動原体型が11対、端部動原体型1対からなり、1対の中部動原体型染色体には動原体付近に二次狭窄が存在すると述べている。本研究の結果、イチイの染色体数は $2n=24$ であることが確認された。また、第8染色体の動原体に近接する部分には中間付随体があることが今回新たに明らかになったが、この部位は日詰ら<sup>43)</sup>が二次狭窄と指摘した部位に該当することも考えられる。最短染色体の動原体は末端に位置するのではなく、末端からやや中央寄りに位置し、この染色体は腕比2.7と極めてst型に近いsm型染色体であった。

(2) カヤ (*Torreya nucifera*)

カヤの体細胞染色体数は $2n=22$ であり、染色体の腕部（介在部）に二次狭窄を有する染色体が1対2本観察された（Fig. 57）。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 22に、その値に基づき染色体構成を模式的にイデオグラムとして描くとFig. 58のようになった。染色体のタイプは11対すべてがm型であったが、第4、第7、第10染色体の腕比は比較的大きく、特に第10染色体の腕比は1.6と極めてsm型に近い染色体であった。染色体の介在部に二次狭窄を有する染色体は第8染



Fig. 57. Photomicrograph of *Torreya nucifera*. Arrows indicate the secondary constriction.

Table 22. Basic morphometric data on chromosomes of *Torreya nucifera*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	5.8	5.3	11.1	±	0.58	1.1	m
2	5.5	4.9	10.4	±	0.23	1.1	m
3	5.2	4.7	9.9	±	0.33	1.1	m
4	5.4	4.1	9.5	±	0.41	1.3	m
5	4.9	4.3	9.2	±	0.15	1.1	m
6	4.7	4.3	9.0	±	0.30	1.1	m
7	5.0	3.8	9.0	±	0.28	1.4	m
8	1.4 + 3.1	4.2	8.6	±	0.78	1.1	m
9	4.4	4.0	8.4	±	0.58	1.1	m
10	4.9	3.2	8.1	±	0.45	1.6	m
11	3.7	3.3	7.0	±	0.53	1.1	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with six cells for each item.

\*\* S.D. means standard deviation.

染色体であり、その二次狭窄は長腕のやや末端寄りに位置していた。カリオグラフはFig. 59に示した。染色体の全長は第1染色体から第10染色体まで漸減し、第10染色体から第11染色体への変化はそれに比較してやや急激であった。LSR=1.6と、染色体構成の長さのばらつきは小さかった。

カヤの染色体数については、Tahara<sup>137)</sup>がPMCの還元分裂と胚乳の細胞分裂で $n=11$ であることを報告している。平吉<sup>39)</sup>は、PMCの還元分裂で $n=11$ と11対の2価染色体を観察している。日詰ら<sup>43)</sup>

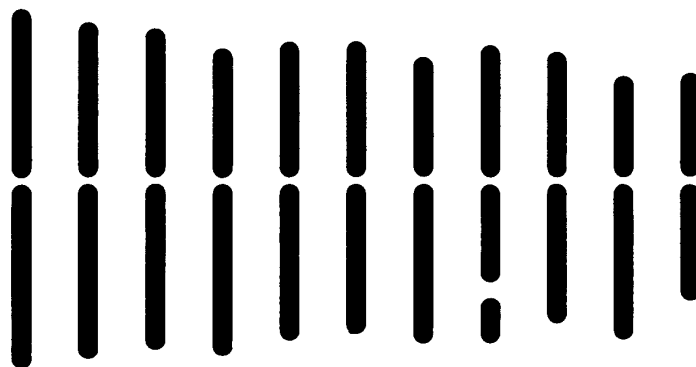


Fig. 58. Idiogram of haploid chromosome complements of *Torreya nucifera*.

は、種名を明らかにしていないがカヤ属の染色体数は $2n=22$ 、その構成は11対すべてが中部動原体型であり、1対の短腕に二次狭窄が存在すると述べている。本研究の結果、カヤでは11対すべてがm型であること、第8染色体の長腕の末端寄りに二次狭窄があることが明らかになった。日詰ら<sup>43)</sup>は種名を記載していないが、1本の染色体短腕に二次狭窄を認めている。カヤ属は北アメリカと東アジアなどに7~8種の分布が知られることから<sup>98)</sup>、短腕に二次狭窄を有する種の存在も考えられる。

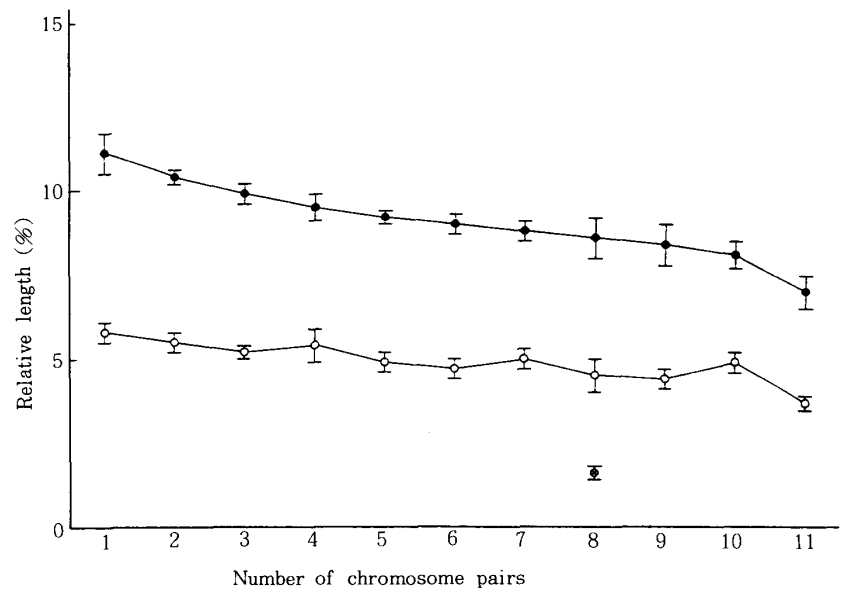


Fig. 59. Karyograph of *Torreya nucifera*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; cross mark, secondary constriction.

### (3) イチイ科に関する考察

本研究の結果、イチイの染色体数は $2n=24$ 、カヤ $2n=22$ と両種に違いがあることがわかり、これまでの報告<sup>43, 53, 88, 95, 111, 137, 138)</sup>を再確認した。染色体の構成では、イチイには中間付随体を有する染色体が1対あり、染色体腕の介在部に二次狭窄をもつ染色体はみられなかった。また、最短染色体は染色体構成からみると、他の染色体に較べ腕比が大きく、染色体長も極めて短い特徴的な染色体であった。カヤには染色体腕の介在部に二次狭窄を有する染色体が1対観察されたが、中間付随体を有する染色体は認められなかった。また、染色体構成でもすべての染色体がm型であり、二次狭窄を有する染色体以外に特徴的な染色体はなかった。したがって、両種には染色体数だけではなく、染色体構成にも明らかな違いがあることがわかった。

イチイ科の核型に関して、Saxら<sup>111)</sup>はイチイ属の4種(イチイを含む)の染色体の構成は似ており、第8、第11染色体の2本は次端部動原体型に近いタイプであると報告している。Mehra<sup>88)</sup>は、ウラジロイヌガヤ(*Amentotaxus*)属とカヤ属の染色体数は $n=11$ 、イチイ属は $n=12$ であり、イチイ属の染色体構成は中部動原体型が10本、端部動原体型染色体が2本であると述べている。日詰ら<sup>43)</sup>は種名を明らかにしていないが、カヤ属の染色体構成ではすべて中部動原体型、1対の短腕に二次狭窄が存在すること、イチイ属は中部動原体型が11対、端部動原体型1対で、1対の中部動原体型染色体には動原体付近に二次狭窄が存在すると報告している。染色体のタイプに関しては、これら3報告と本研究の結果は必ずしも一致せず、Mehra<sup>88)</sup>、日詰ら<sup>43)</sup>が指摘している端部動原体型染色体は、st型に近いsm型として確認された。日詰らがイチイ属について指摘している動原体に近接した部分の二次狭窄は本研究の中間付随体に該当すると考えられた。本研究の供試樹種はイチイとカヤの2種のみであるが、イチイ属は北半球に8種分布するが互いに近縁で、すべてを1種とし、それぞれを亜種とする考えもあることから北村ら<sup>65)</sup>、Saxら<sup>111)</sup>、日詰ら<sup>43)</sup>が述べているようにイチイ属の染色体構成には大きな違いがないことも考えられた。

## 2. ナンヨウスギ(*Araucariaceae*)科

ブラジルアロウカリア(*A. angustifolia*)の体細胞染色体数は $2n=26$ であり、動原体に近接した部分に中間付随体を有する染色体が1対2本観察された(Fig. 60)。染色体の相対長、腕比などの形態的な

データはTable 23に、その値に基づき染色体構成を模式的に描くとFig. 61のようになった。染色体のタイプは第9、第10、第12染色体がsm型、残り9対がm型であったが、第8、第11、第13染色体の腕比は、それぞれ1.4、1.6、1.5とsm型に近いm型染色体であった。染色体構成の長さの変化をカリオグラフで表示するとFig. 62のようになった。染色体の全長は第1染色体から第8染色体まで漸減するが、第9、第10染色体とやや急減した。第10染色体から最短染色体の第13染色体までの長さは漸減していた。長腕の長さでは、sm型染色体であ

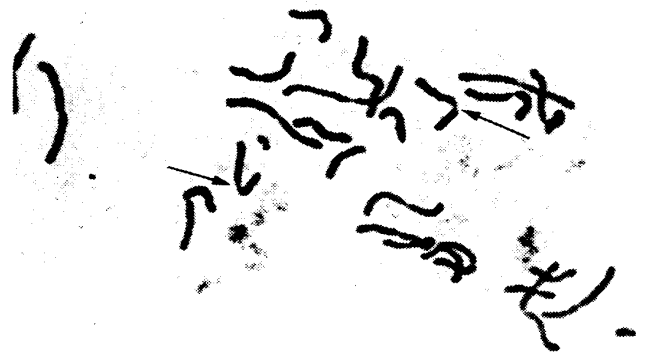


Fig. 60. Photomicrograph of *Araucaria angustifolia*. Arrows indicate the intercalary long constriction.

Table 23. Basic morphometric data on chromosomes of *Araucaria angustifolia*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	5.4	4.9	10.3	±	0.56	1.1	m
2	5.1	4.4	9.5	±	0.21	1.2	m
3	4.8	4.4	9.3	±	0.21	1.1	m
4	4.7	4.3	9.0	±	0.20	1.1	m
5	4.6	4.2	8.8	±	0.29	1.1	m
6	4.6	3.8	8.5	±	0.38	1.2	m
7	4.2	3.8	8.0	±	0.52	1.1	m
8	4.5	3.3	7.8	±	0.51	1.4	m
9**	4.8	2.4	7.2	±	0.59	2.0	sm
10	4.4	1.5	6.0	±	0.33	2.9	sm
11	3.5	2.1	5.6	±	0.47	1.6	m
12	3.8	1.5	5.3	±	0.39	2.7	sm
13	2.9	2.0	5.0	±	0.43	1.5	m

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with six cells for each item.

\*\* Length of the intercalary trabant of this pair is not included in the chromosome's measurements.

\*\*\* S.D. means standard deviation.

る第9染色体、第12染色体に小さいピークがあり、長さの逆転がみられた。また、染色体の長さで注目すると、カリオグラフ (Fig. 62) から明らかなように、本種の染色体の構成は最長の第1染色体から第8染色体までは染色体のタイプがm型で、しかも比較的染色体の長いグループに分けられ、中間付随体を有する第9染色体から最短の第13染色体まで

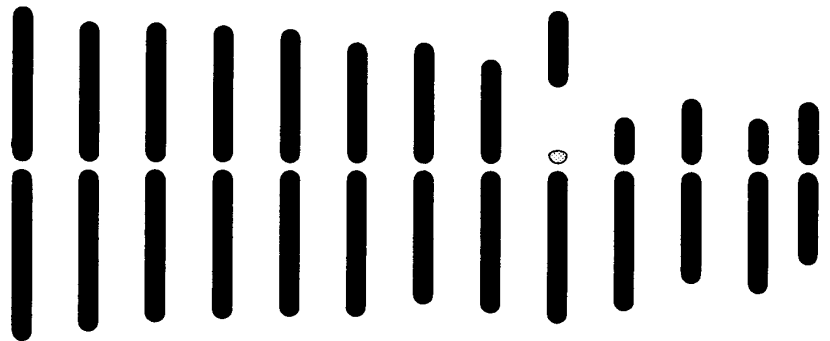


Fig. 61. Idiogram of haploid chromosome complements of *Araucaria angustifolia*. Small dotted intercalary trabant is not included in chromosome's measurements.

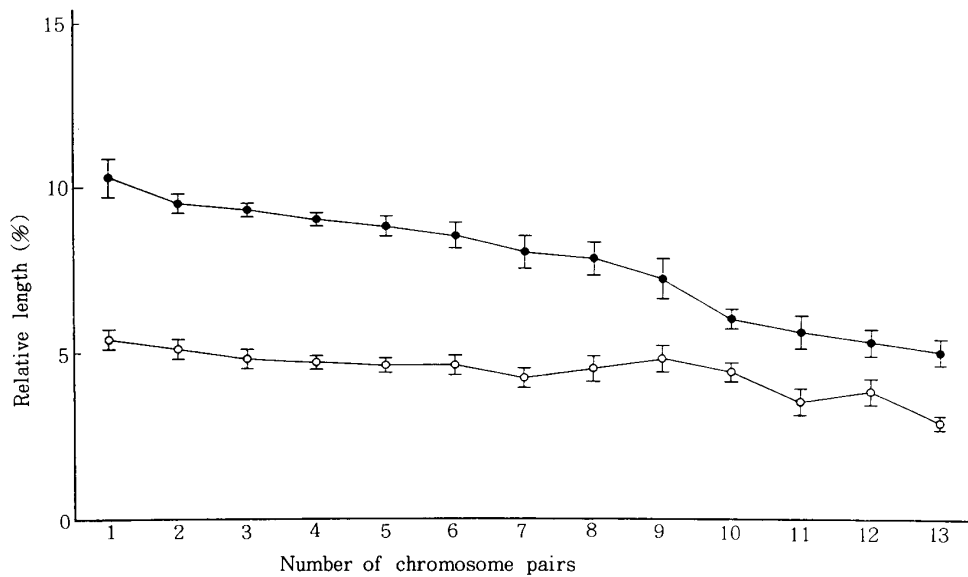


Fig. 62. Karyograph of *Araucaria angustifolia*. Solid marks, total length; open marks, long arm length.

は、sm型あるいは極めてsm型に近い腕比をもつ短い染色体長のグループの2つに分けて考えることができた。

ナンヨウスギ科は2属、ナンヨウスギ (*Araucaria*) 属とナギモドキ (*Agathis*) 属とに分類され、両属の染色体数はともに $2n=26$ であることが知られている<sup>61,88)</sup>。ナンヨウスギ属の染色体構成について、Mehra<sup>88)</sup>は中部動原体型が10対、次端部あるいは次中部動原体型が3対と報告している。佐々木<sup>100)</sup>はブラジルアロウカリアの染色体の構成を中部動原体型8対、次中部型2対、次端部型2対、大きな付随体を有する端部動原体型1対と述べている。佐々木の染色体のタイプ分けは、篠遠<sup>122)</sup>のタイプ分けに基づいているので、本研究に用いたタイプ分けに基づく中部動原体型10対、次端部動原体型2対、大きな付随体を有する端部動原体型1対になる。しかしながら、この付随体染色体は、本研究で中間付随体と解釈している付随体を短腕と考え、本研究では短腕と解釈している染色体の短腕部を付随体としたことから、端部動原体型にタイプ分けしたものと思われた。したがって、佐々木の付随体を短腕とすると染色体のタイプはst型~sm型に該当するものと考えられた。Cardemilら<sup>11)</sup>はブラジルアロウカリアとアメリカウロコモミ (*A. araucana*) の2種の染色体構成は、10対の中部動原体型と3対の次中部動原体型であり、1対の中部動原体型染色体には動原体に近接した部分に長いくびれがあること (a long intercalary constriction close to centromere region) と報告している。この長いくびれの染色体は本研究の中間付随体染色体に該当する。

Cardemilらはこの染色体を中部動原体型と識別し<sup>11)</sup>、本研究ではsm型となったが、おおむねCardemilらの結果と本研究の結果とは一致しているとみなせた。

### 3. ヒノキ (Cupressaceae) 科

ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) の体細胞染色体数は $2n=22$ であり、1対の染色体腕の介在部に二次狭窄が認められた (Fig. 63)。染色体の相対長、腕比などの形態的なデータはTable 24に掲げた。最短染色体のみがsm型、



Fig. 63. Photomicrograph of *Chamaecyparis obtusa*. Arrows indicate the secondary constriction.

Table 24. Basic morphometric data on chromosomes of *Chamaecyparis obtusa*\*

Number of chromosome pairs	Relative length					Arm ratio	Type
	Long arm	Short arm	Total	±	S.D.**		
1	6.1	5.7	11.8	±	0.47	1.1	m
2	5.8	5.4	11.2	±	0.74	1.1	m
3	5.3	4.8	10.2	±	0.64	1.1	m
4	5.6	4.0	9.7	±	0.41	1.4	m
5	2.5 + 2.6	4.4	9.6	±	0.89	1.1	m
6	4.8	4.1	8.9	±	0.24	1.2	m
7	4.8	3.7	8.6	±	0.29	1.3	m
8	4.6	3.4	8.0	±	0.45	1.4	m
9	4.4	3.2	7.6	±	0.35	1.4	m
10	3.9	3.2	7.2	±	0.46	1.2	m
11	4.0	2.6	6.6	±	0.62	1.7	sm

\* Each value on this table is the mean value which is calculated with five cells for each item.

\*\* S.D. means standard deviation.

残り10対はm型染色体であったが、第4、第7～第9染色体の腕比は1.3～1.4と比較的腕比が大きかった。Fig. 64のイデオグラムから明らかなように、二次狭窄は第5染色体の長腕のほぼ中央に位置していた。染色体の長さ（全長）の変化はカリオグラフ（Fig. 65）に示したように、最長染色体から最短染色体まで漸減していた。長腕長では前後の染色体に比較し腕比のやや大きい第4染色体とsm型の第11染色体に小さなピークがみられた。LSRを計算すると1.5であり、染色体構成の長さのばらつきも小さかった。

ヒノキの染色体数について、平吉<sup>39)</sup>は $n=11$ を、金沢<sup>60)</sup>と柴田ら<sup>123)</sup>は $2n=22$ を報告し、黒木<sup>72)</sup>は核型について報告している。黒木によれば、中部動原体型が6対、次中部型4対、次端部型1対であり、次端部型の

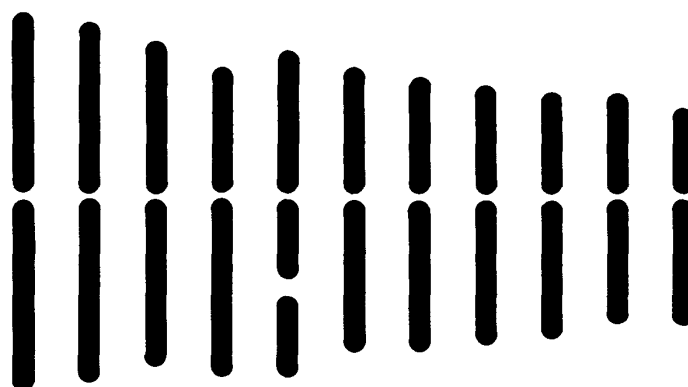


Fig. 64. Idiogram of haploid chromosome complements of *Chamaecyparis obtusa*.

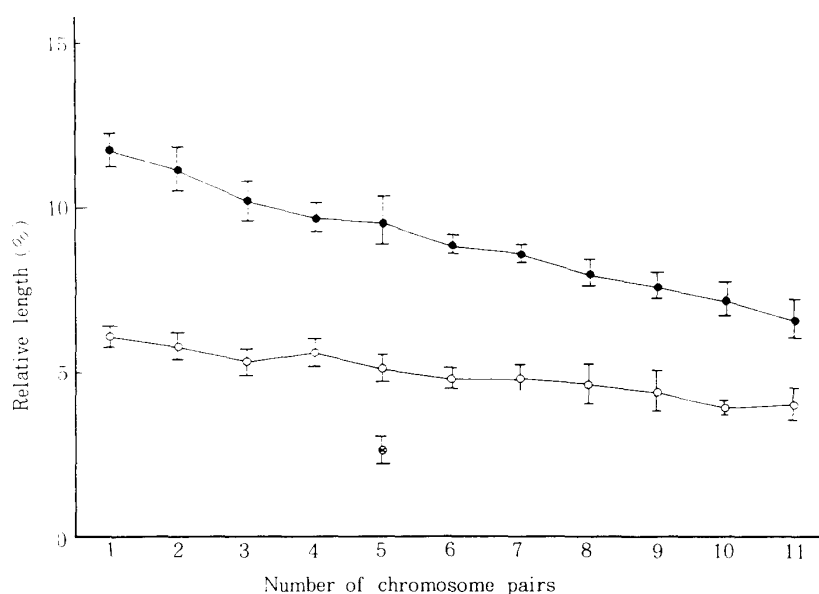


Fig. 65. Karyograph of *Ch. obtusa*. Solid marks, total length; open marks, long arm length; cross marks, secondary constriction.



染色体は短腕に付随体を有していると述べている。このタイプ分けを本研究で用いたタイプ分けに改めると m 型10対、最短染色体が sm 型で、第 6 染色体に二次狭窄が位置しており、本研究の結果とはほぼ一致していた。

ヒノキ科の染色体数について、Mehra<sup>87)</sup>は 7 属17種すべてが  $2n=22$  であり、2、3 の種を除き、染色体の介在部に二次狭窄を確認している。黒木<sup>72)</sup>はヒノキ科（黒木はヒノキ科とビャクシン科を別科に分類しているが、ここでは両科をまとめヒノキ科とした）5 属10種について詳細に核型分析を行い、それらすべての種で染色体の介在部に位置する二次狭窄を観察している。本研究での供試樹種は 1 種のみであるが、これまでの Mehra<sup>87)</sup>、黒木<sup>72)</sup>の研究結果を考え合わせると、ヒノキ科の構成染色体の特徴としては、中間付随体を有する染色体はなく、染色体腕部に二次狭窄のある染色体を有するものと考えられた。

### 第 3 節 核型分析に関する考察

#### 1. スギ科について

核型分析に用いたすべての樹種の染色体数と染色体のタイプ構成は Table 25 に掲げた通りである。

Table 25. Chromosome numbers and chromosome types

Genus name	Species name	Somatic chromosome number (2n)	Basic chromosome number (x)	Number of chromosome types	
				m-type	sm-type
<i>Sciadopitys</i>	<i>Sc. verticillata</i>	20	10	10	-
<i>Cryptomeria</i>	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Iwaosugi</i>	22	11	10	1
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Measa</i>	22	11	10	1
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Urasebarusugi</i> (triploid)	33	11	10	1
	<i>Cr. fortunei</i> (Zhe jiang)	22	11	10	1
	<i>Cr. fortunei</i> (Jiang xi)	22	11	10	1
<i>Cunninghamia</i>	<i>Cu. lanceolata</i>	22	11	9	2
	<i>Cu. konishii</i>	22	11	9	2
<i>Taiwania</i>	<i>T. cryptomerioides</i>	22	11	7	4
<i>Taxodium</i>	<i>Ta. distichum</i>	22	11	10	1
	<i>Ta. mucronatum</i> (triploid)	33	11	11	-
<i>Glyptostrobus</i>	<i>G. pensilis</i>	22	11	11	-
<i>Sequoia</i>	<i>Se. sempervirens</i>	66	11	11	-
<i>Sequoiadendron</i>	<i>S. giganteum</i>	22	11	10	1
<i>Metasequoia</i>	<i>M. glyptostroboides</i>	22	11	11	-
<i>Taxus</i>	<i>Ta. cuspidata</i>	24	12	10	2
<i>Torreya</i>	<i>To. nucifera</i>	22	11	11	-
<i>Araucaria</i>	<i>A. angustifolia</i>	26	13	10	3
<i>Chamaecyparis</i>	<i>Ch. obtusa</i>	22	11	10	1

スギ科ではコウヤマキが  $2n=20$ （基本数  $x=10$ ）、3 倍体のウラセバルスギとメキシコラクウショウが  $2n=33$ （ $x=11$ ）、6 倍体のセコイアメスギが  $2n=66$ （ $x=11$ ）であり、残りの樹種はすべて  $2n=22$ （ $x=11$ ）であった。また、本研究に用いることができなかった残るスギ科の 1 属タスマニアシーダ属の 3 種については、染色体数が  $2n=22$ （ $x=11$ ）であることが知られている<sup>26)</sup>。供試したスギ科では 3 倍体、6 倍体なども用いているので、染色体の基本数に基づく、スギ科は  $x=10$  と  $x=11$  に分けられた。 $x=10$  のものはコウヤマキのみであり、コウヤマキ以外のスギ科すべては  $x=11$  であった。したがって、コウヤマキは染色体数では、明らかに他の樹種と異なっていることがわかった。染色体のタイプ構成では、コウヨウザン属のコウヨウザンとランダイスギおよびタイワンスギ属のタイワンスギのみが sm 型すなわち

不等腕対を2対以上有しており、残りのスギ科はsm型を0対または1対しか有していなかった。特に、タイワンスギはsm型を4対もっており、他の樹種とは染色体のタイプ構成が異なっていた。

染色体構成の長さのばらつきを表すLSRをまとめるとTable 26に示したようになった。コウヤマキが最も小さい値であり、最長染色体と最短染色体の長さの差が小さく、長さの類似した染色体のみで構成されているといえた。また、最大の値を示したのはコウヨウザンであったが、ランダイスギ、タイワンスギも大きな値を示していた。このLSRは最長染色体と最短染色体の比で示されるが、染

Table 26. Number of chromosomes and LSR in Taxodiaceae\*

Species name	Number of chromosomes		LSR
	(2n)	(x)	
<i>Sciadopitys verticillata</i>	20	10	1.5
<i>Cryptomeria japonica</i> cv. <i>Measa</i>	22	11	1.6
<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Urasebarusugi</i> (triploid)	33	11	1.6
<i>Taxodium mucronatum</i> (triploid)	33	11	1.6
<i>Cryptomeria japonica</i> cv. <i>Iwaosugi</i>	22	11	1.7
<i>Cr. fortunei</i> (Zhe jiang)	22	11	1.7
<i>Cr. fortunei</i> (Jiang xi)	22	11	1.7
<i>Taxodium distichum</i>	22	11	1.7
<i>Glyptostrobus pensilis</i>	22	11	1.8
<i>Sequoia sempervirens</i>	66	11	2.0
<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	22	11	2.1
<i>Sequoiadendron giganteum</i>	22	11	2.1
<i>Taiwania cryptomerioides</i>	22	11	2.3
<i>Cunninghamia konishii</i>	22	11	2.5
<i>Cu. lanceolata</i>	22	11	2.6

\* LSR : (the longest chromosome length) / (the shortest chromosome length) in each species.

色体の進化では、染色体数の増加・減少、染色体の大きさ（長さ）の増大・縮小、染色体間の大きさ（長さ）の差の増大・縮小、動原体の位置の中央化（対称化）・末端化（非対称化）などが生じている<sup>129,139,142)</sup>。したがって、相互転座などの染色体の構造変化によって、染色体の大きさの増大か縮小あるいは染色体間の差の増大か縮小が生じている場合には、染色体構成の長さのばらつきも増大か縮小することになる。このように考えると、染色体構成の長さのばらつきを表すLSRも重要な意味をもってくる。また、染色体の構造変化によって、染色体の中央化か末端化が生じていることは、染色体のタイプ構成の違いを生じることになり、上述のタイプ構成の違いは染色体の構造変化の直接的な現れと考えられる。染色体の長さのばらつきを表すLSR=2.0すなわち最短染色体が最長染色体の2分の1を1つ

Table 27. Grouping of Taxodiaceae

Group	Species name	Number of chromosomes		LSR*	Number of chromosome types (pair)	
		(2n)	(x)		sm-type	m-type
I	<i>Sciadopitys verticillata</i>	20	10	1.5	10	-
II	<i>Taxodium mucronatum</i> (triploid)	33	11	1.6	11	-
	<i>Cryptomeria japonica</i> ( <i>Measa</i> )	22	11	1.6	10	1
	<i>Cr. japonica</i> ( <i>Urasebarusugi</i> : triploid)	33	11	1.6	10	1
	<i>Cr. japonica</i> ( <i>Iwaosugi</i> )	22	11	1.7	10	1
	<i>Cr. fortunei</i> (Zhe jiang)	22	11	1.7	10	1
	<i>Cr. fortunei</i> (Jiang xi)	22	11	1.7	10	1
	<i>Taxodium distichum</i>	22	11	1.7	10	1
	<i>Glyptostrobus pensilis</i>	22	11	1.8	11	-
III	<i>Sequoia sempervirens</i>	66	11	2.0	11	-
IV	<i>Metasequoia glyptostroboides</i>	22	11	2.1	11	-
	<i>Sequoiadendron giganteum</i>	22	11	2.1	10	1
V	<i>Taiwania cryptomerioides</i>	22	11	2.3	7	4
VI	<i>Cunninghamia konishii</i>	22	11	2.5	9	2
	<i>Cu. lanceolata</i>	22	11	2.6	9	2

\* LSR : (the longest chromosome length) / (the shortest chromosome length) in each species.

の目安とし、染色体数と染色体のタイプ構成を考え合わせるとスギ科はTable 27のように分けることができた。第ⅠグループはLSRが2.0以下で染色体数が $2n=20$ 、コウヤマキのみである。第ⅡグループはLSR=2.0以下であり、染色体数が $2n=22$ または $2n=33$ のもので、スギ属、スイショウ属、ラクウショウ属の3属が含まれる。3倍体のウラセバルスギとメキシコラクウショウの染色体数は基本的に $2n=22$ と考えたので、あえて別のグループとはしなかった。第ⅢグループはLSR=2.0であり、染色体数が異なっていることから1つのグループにまとめられた。それは、セコイアメスギ1種のみのである。第Ⅳグループはメタセコイアとセコイアオスギで、LSR=2.1と最短染色体の長さが最長染色体の半分以下であった。タイプ構成ではsm型が0から1対とⅡグループと共通していた。第ⅤグループはLSR=2.3と比較的大きく、しかも他のグループとは異なりsm型染色体が4対のタイワンスギのみである。第ⅥグループはLSR=2.5~2.6と長さのばらつきが最も大きく、sm型染色体が2対のコウヨウザンとランダイスギのグループである。

スギ科の染色体構成のなかで、本研究で明らかになった新知見として中間付随体を有する染色体があげられる。この中間付随体を含めてスギ科で確認された二次狭窄あるいは付随体はTable 28の通りである。付随体の位置と二次狭窄の有無によって、スギ科を次の5グループに分けて考えることができた。

Table 28. Numbers and locations of the trabant and the secondary constriction

Genus name	Species name	Total number of trabant and secondary constriction	Locations of trabant and secondary constriction		
			Intercalary trabant	Terminal trabant	Secondary constriction
<i>Sciadopitys</i>	<i>Sc. verticillata</i>	2	-	-	2
<i>Cryptomeria</i>	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Iwaosugi</i>	3	2	-	1
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Measa</i>	2	2	-	-
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Urasebarusugi</i> (triploid)	5	3	-	2
	<i>Cr. fortunei</i> (Zhe jiang)	2	2	-	-
	<i>Cr. fortunei</i> (Jiang xi)	2	2	-	-
<i>Cunninghamia</i>	<i>Cu. lanceolata</i>	2	-	2	-
	<i>Cu. konishii</i>	2	-	2	-
<i>Taiwania</i>	<i>T. cryptomerioides</i>	2	2	-	-
<i>Taxodium</i>	<i>Ta. distichum</i>	2	2	-	-
	<i>Ta. mucronatum</i> (triploid)	3	3	-	-
<i>Glyptostrobus</i>	<i>G. pensilis</i>	2	2	-	-
<i>Sequoia</i>	<i>Se. sempervirens</i>	6	-	6	-
<i>Sequoiadendron</i>	<i>S. giganteum</i>	2	2	-	-
<i>Metasequoia</i>	<i>M. glyptostrobooides</i>	6	6	-	-
<i>Taxus</i>	<i>Ta. cuspidata</i>	2	2	-	-
<i>Torreya</i>	<i>To. nucifera</i>	2	-	-	2
<i>Araucaria</i>	<i>A. angustifolia</i>	2	2	-	-
<i>Chamaecyparis</i>	<i>Ch. obtusa</i>	2	-	-	2

〈二次狭窄のみを有するもの〉

コウヤマキ

〈中間付随体を1対有するもの〉

スギ(メアサ)、柳杉、タイワンスギ、ラクウショウ、メキシコラクウショウ、スイショウ、セコイアオスギ、

〈中間付随体を3対有するもの〉

メタセコイア

〈中間付随体と二次狭窄の両方を有するもの〉

スギ（イワオスギ、ウラセバルスギ）

〈付随体を有するもの〉

コウヨウザン、ランダイスギ、セコイアメスギ

供試樹種ごとにタイプ分けすると以上のように分けることができたが、前述のようにスギと柳杉の第6染色体の二次狭窄は、自然交配集団内に0型、I型、II型のものが混在していると考えられることから、メアサと柳杉はともにスギ属として「中間付随体と二次狭窄を有するグループ」に含めて考えることもできる。したがって、スギ属については「中間付随体と二次狭窄を有するグループ」と考え、これにTable 27で示したグループ分けを基に付随体と二次狭窄の有無によるタイプ分けを考え合わせると、スギ科はさらに幾つかのグループに分けられ、以下のようにまとめることができた。

第Iグループ：染色体数 $2n=20$  ( $x=10$ )、 $LSR < 2.0$ 、二次狭窄染色体のみを有する—コウヤマキ属

第II aグループ：染色体数 $2n=22$  ( $x=11$ )、 $LSR < 2.0$ 、中間付随体染色体のみを有し、二次狭窄染色体をもたない—スイショウ属、ラウウショウ属

第II bグループ：染色体数 $2n=22$  ( $x=11$ )、 $LSR < 2.0$ 、中間付随体染色体と二次狭窄染色体の混在するもの—スギ属

第IIIグループ：染色体数 $2n=66$  ( $x=11$ )、 $LSR = 2.0$ 、付随体染色体を有する—セコイアメスギ属

第IV aグループ：染色体数 $2n=22$  ( $x=11$ )、 $LSR > 2.0$ 、中間付随体染色体を有する—セコイアオスギ属

第IV bグループ：染色体数 $2n=22$  ( $x=11$ )、 $LSR > 2.0$ 、中間付随体染色体を3対有するもの—メタセコイア属

第Vグループ：染色体数 $2n=22$  ( $x=11$ )、 $LSR > 2.0$ 、中間付随体染色体を有するもの—タイワンスギ属

第VIグループ：染色体数 $2n=22$  ( $x=11$ )、 $LSR > 2.0$ 、付随体染色体を有するもの—コウヨウザン属

以上のように、スギ科をグループ分けすることができたが、染色体の基本数および付随体あるいは中間付随体の有無の2点からみると、第Iグループに分けられたコウヤマキは他のグループとの共通点に乏しく核型からみて特異的な樹種と考えられた。このコウヤマキの分類については早田<sup>35,36</sup>、上原<sup>163</sup>、林<sup>34</sup>などスギ科から独立させコウヤマキ科に分類されることもあり、本研究の核型分析の結果からみても、スギ科に属させるよりも、コウヤマキ科として独立させることが望ましいことも考えられた。

## 2. スギ科以外の樹種について

核型分析に用いたスギ科以外の樹種の染色体数と染色体のタイプ構成は前出のTable 25に掲げた通りである。イチイ $2n=24$  ( $x=12$ )、カヤとヒノキ $2n=22$  ( $x=11$ )、ブラジルアロウカリア $2n=26$  ( $x=13$ )と染色体数に明らかな違いがみられた。染色体のタイプ構成では、カヤとヒノキがsm型を0対と1対、イチイが2対、ブラジルアロウカリアは3対であった。4種のLSRをまとめるとTable 29になった。イチイとブラジルアロウカリアが

Table 29. Number of chromosomes and LSR\*

Family name	Species name	Number of chromosomes		LSR
		(2n)	(x)	
Taxaceae	<i>Taxus cuspidata</i>	24	12	2.4
	<i>Torreya nucifera</i>	22	11	1.6
Araucariaceae	<i>Araucaria angustifolia</i>	26	13	2.1
Cupressaceae	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	22	11	1.8

\*LSR : (the longest chromosome length) (the shortest chromosome length) in each species.

LSR>2.0、カヤとヒノキはLSR<2.0であった。中間付随体と二次狭窄はTable 28に示した通りであり、イチイとブラジルアロウカリアが中間付随体染色体を有するのに対し、カヤとヒノキは中間付随体染色体を有せず、二次狭窄染色体を有していた。染色体数が $2n=22$ であるカヤとヒノキは染色体構成からみても不等腕染色体が少なく、染色体構成の長さのばらつきも小さく、中間付随体染色体も有していないという共通性をもっていた。染色体数が $2n=24$ 、 $2n=26$ と多いイチイとブラジルアロウカリアは、いずれも中間付随体染色体を有しており、不等腕染色体の数が多く、しかも染色体構成の長さのばらつきも大きかった。これらのことから、供試したイチイ、カヤ、ブラジルアロウカリア、ヒノキでは染色体数、染色体のタイプ構成、中間付随体の有無、LSRからみると、イチイ科のイチイとカヤは同一科に属していながら、核型に大きな違いがあり、カヤは核型からみるとイチイよりもむしろヒノキに近い傾向がみられた。

### 3. 核型分析のまとめ

スギ科およびスギ科以外の供試樹種の核型分析の結果、核型の大きな特徴として、スギ科の多くとイチイおよびブラジルアロウカリアには中間付随体を有する染色体があることがわかった。この中間付随体を有しない樹種では付随体か二次狭窄を有しており、その中間型として中間付随体と二次狭窄を両方有するスギ属があることがわかった。これら特徴的な中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体のみを属単位で図示すると、Fig. 66のようになった。

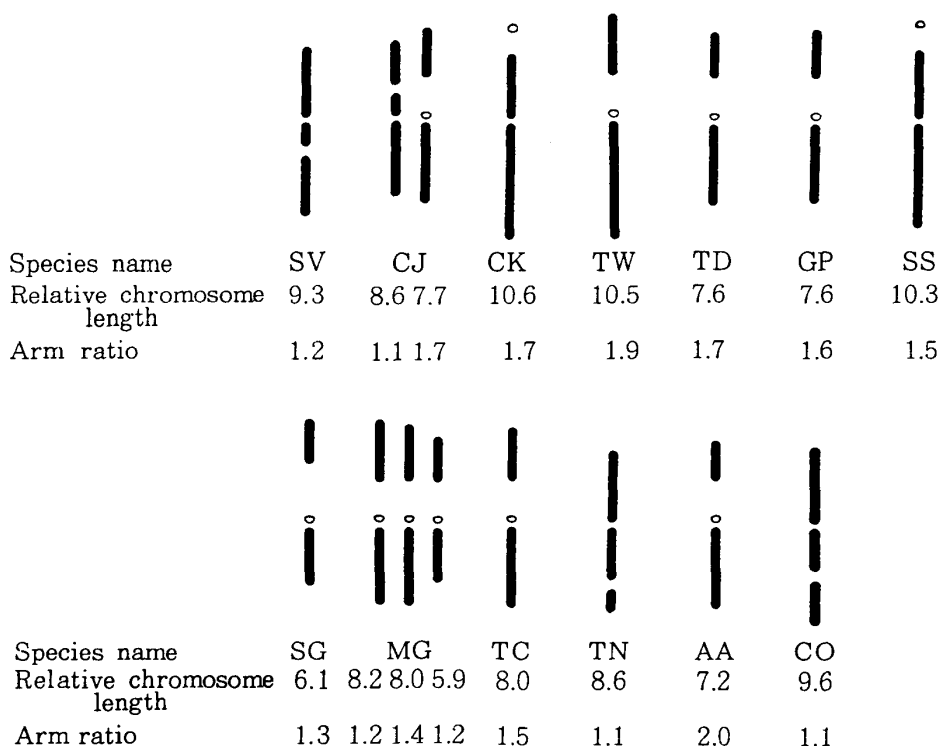


Fig. 66. Chromosomes possessed the intercalary trabant, the trabant and secondary constriction. SV, *Sciadopitys verticillata*; CJ, *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi*; CK, *Cunninghamia konishii*; TW, *Taiwania cryptomeriodes*; TD, *Taxodium distichum*; GP, *Glyptostrobus pensilis*; SS, *Sequoia sempervirens*; SG, *Sequoiadendron giganteum*; MG, *Metasequoia glyptostroboides*; TC, *Taxus cuspidata*; TN, *Torreya nucifera*; AA, *Araucaria angustifolia*; CO, *Chamaecyparis obtusa*.

Fig. 66から明らかなように二次狭窄型の染色体を除き、中間付随体染色体と付随体染色体は、その形の上からみると、動原体に近い部分で染色体の切断を生じ、位置関係が入れ替わった、すなわち逆位によって生じた可能性が示唆された。また、Fig. 66には染色体の相対長と腕比を記載したが、相対長の異種間での比較は、DNA量がほぼ等しい、すなわち染色体の絶対長に差がないとの前提がなければならぬと考えられる。その理由としては、染色体の構造変化では染色体の欠失、逆位、転座、重複などが生じており、その過程で染色体の一部の消失や重複が生じた場合には染色体の全長（全構成染色体の全長）が変化していることになる。このように染色体の全長（全構成染色体の全長）に変化が生じた場合には相対長での比較は何ら意味をもたないことになる。したがって、異種間での相対長の比較には染色体の全長に差がないこと、すなわち、比較する異種間のDNA量に差がないことが前提として必要となるように思われる。しかしながら、腕比については、染色体の相対長とは無関係に定まった値であり、比較する樹種間にDNA量の違いがあったとしてもその染色体固有の値とみなすことができる。そこで、中間付随体と付随体染色体の腕比について分散分析を試みた。Table 30から明らかなように、腕比は染色体間で有意差を示した。さらに染色体相互間の有意差を検討するとTable 31に掲げたようになった。腕比の小さいメタセコイアの第8、第11染色体とセコイアオスギの第11染色体相互間には有意差はみられなかった。セコイアメスギの付随体型の第4染色体と中間付随体のイチイの第8染色体、メキシコラクウショウの第10染色体にも有意な差はなかった。メキシコラクウショウの

Table 30. Analysis of variance table for the arm ratio of chromosomes possessed the intercalary trabant or the trabant.

Source	DF	SS	MS	F
Chromosomes	17	14.78	0.87	29.0**
Error	351	11.64	0.03	
Total	368	26.4		

DF, degree of freedom : SS, sum of square : MS, mean square  
 \*\* : significant at 1% level

Table 31. Test of significance for the arm ratio of the chromosomes possessed the intercalary trabant and the trabant

Species name	MG	MG	SG	MG	SS	TC	TM	GP	IW	UR	CK	ME	TD	CL	RYJ	RYZ	TW	AA
Chromosome number	08	11	11	09	04	08	10	09	10	10	04	10	10	04	10	10	04	09
Location of trabant	I	I	I	I	T	I	I	I	I	I	T	I	I	T	I	I	I	I

Bar, non-significant at 5% level. AA, *Araucaria angustifolia* ; CK, *Cunninghamia konishii* ; CL, *Cunninghamia lanceolata* ; GP, *Glyptostrobus pensilis* ; IW, *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi* ; ME, *Cr. japonica* cv. *Measa* ; MG, *Metasequoia glyptostroboides* ; RYJ, *Cr. fortunei* from Jiang xi ; RYZ, *Cr. fortunei* from Zhe jiang ; SG, *Sequoiadendron giganteum* ; SS, *Sequoia sempervirens* ; TC, *Taxus cuspidata* ; TD, *Taxodium distichum* ; TM, *Taxodium mucronatum* ; TW, *Taiwania cryptomerioides* ; UR, *Cr. japonica* cv. *Urusebarusugi*.

Location of trabant ; I means intercalary ; T means terminal.

第10染色体はスイショウ、スギ3品種、ラクウショウの中間付随体とは有意差がなかったが、柳杉の中間付随体と有意差がみられた。また、付随体型のコウヨウザンとランダイスギを含むスイショウから柳杉までは有意差がみられなかった。付随体染色体であるコウヨウザンとタイワンスギには有意差はなかったが、同じ付随体染色体であるセコイアメスギとコウヨウザン属の2種には有意な差がみられた。タイワンスギとブラジルアロウカリアの中間付随体染色体はすべての中間付随体および付随体染色体と有意な差を示した。本章では前述のような理由で相対長の比較が行えないので（第VI章で後述）、腕比についてのみ分散分析を試みた。その結果、上述のように幾つかのまとまりがみられた。特に、前述の

LSR、染色体数、染色体構成などによってグループ分けした第Ⅱ a、b グループに属する樹種ではメキシコラクウショウと柳杉の間で有意差がみられた以外はすべての中間付随体型の染色体間で有意な差がなかった。また、第Ⅳ a、b グループとして分けたセコイアオスギとメタセコイアの中間付随体の腕比には共通性が認められ、第Ⅴグループに独立させたタイワンスギの中間付随体の腕比はすべての樹種の中間付随体および付随体染色体と有意な差を示した。後述の相対的DNA量あるいは染色体の相対長による結論を持たなければならないが、少なくとも核型によるグループ分けと中間付随体および付随体の腕比の間には高い関連がみられ、外部形態のみならず、核型においてもスギ科が幾つかのグループに分けられる可能性があることが考えられた。

#### 第Ⅳ章 核小体形成部 (NOR) および核小体の分染

前章でスギ科および供試したすべての樹種には特徴的な染色体として、中間付随体染色体、付随体染色体あるいは二次狭窄染色体があることが明らかになった。一般に、二次狭窄や付随体につながる連結糸と呼ばれる狭窄部分はNORと考えられることが多いが、これまで球果植物でNORが確認されたのは、わずか2、3の例があるにすぎない<sup>3,4,11)</sup>。本章では、前章で明らかにされた中間付随体あるいは付随体につながる狭窄部分と二次狭窄の機能を明らかにすることを目的として、NORと核小体の分染を試みた。

##### 第1節 スギ科のNORと核小体

###### 1. コウヤマキ属

コウヤマキの体細胞分裂中期の染色体を、Ag-I法で染色すると染色体の介在部に位置する二次狭窄のみが黒褐色に濃染され、染色体のそれ以外の部分は淡黄色から淡褐色に染色された (Fig. 67)。したがって、黒褐色の濃染部分、つまり染色体の介在部の二次狭窄がNORであることがわかった。また、間期核をAg-I法で染色するとFig. 68にみられるように、核小体のみが黒褐色に濃染された。核小体の個数は1~2個、最大個数2個であり、NORの数と一致していた。これらのことから、本種では染色体腕の介在部に位置する二次狭窄のみが、NORとして機能しており、それぞれのNORが1個ずつの核小体の形成に対応していると考えられた。



Fig. 67. Photomicrograph of *Sciadopitys verticillata* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained secondary constriction.

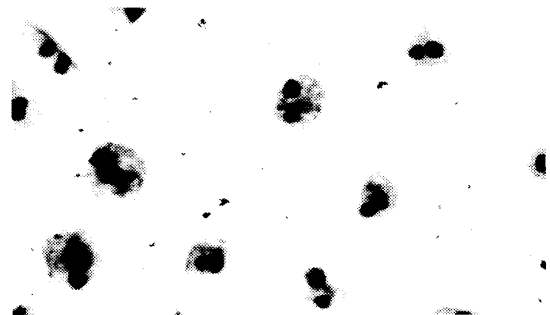


Fig. 68. Photomicrograph of nucleoli of *Sciadopitys verticillata*.

## 2. スギ属

## (1) イワオスギ

Ag-I法で染色されたイワオスギの体細胞分裂中期の染色体はFig. 69の通りである。染色体の介在部に位置する二次狭窄が濃染された染色体が1本、動原体に近接した中間付随体につながる長くくびれる部分が濃染された染色体が2本観察された。したがって、イワオスギではそれら3箇所がNORであることがわかった。また、間期核をAg-I法で染色すると、1～3個、最大個数3個の核小体が濃染され (Fig. 70)、最大個数3個であることから、NORの数と一致していた。これらのことから、イワオスギでは1本の染色体の二次狭窄と、2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる特徴的な部分の計3箇所がNORとして機能していた。



Fig. 69. Photomicrograph *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction. Arrowhead shows the darker stained secondary constriction.

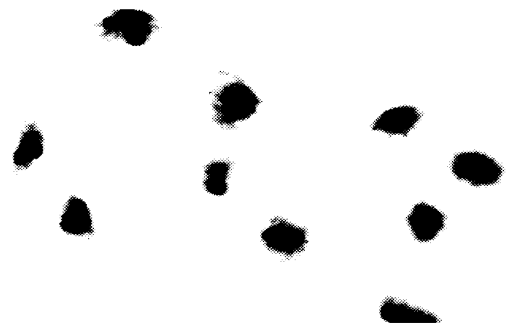


Fig. 70. Photomicrograph of nucleoli of *Cryptomeria japonica* cv. *Iwaosugi*.

## (2) メアサ

Ag-I法で染色されたメアサの体細胞分裂中期の染色体は、Fig. 71に示した通りである。2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染され、この2箇所がNORとして機能していることがわかった。また、間期核では1～2個、最大個数2個の核小体が観察され (Fig. 72)、核小体の最大個数はNORの数と一致していた。これらのことから、メアサでは2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが、NORとして機能していた。



Fig. 71. Photomicrograph of *Cryptomeria japonica* cv. *Measa* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.



Fig. 72. Photomicrograph of nucleoli of *Cryptomeria japonica* cv. *Measa*.



## (3) ウラセバルスギ

Ag-I法で染色されたウラセバルスギの体細胞分裂中期の染色体はFig. 73に示した。染色体の介在部に位置する二次狭窄が濃染された染色体が2本、中間付随体につながる長くくびれる部分が濃染された染色体が3本観察された。したがって、それら計5箇所がNORであることがわかった。また、間期核では、最大個数5個の核小体が数えられることから (Fig. 74)、NORの数と一致していた。これらのことから、ウラセバルスギでは2本の染色体の二次狭窄と、3本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる特徴的な部分の計5箇所がNORとして機能していた。



Fig. 73. Photomicrograph of *Cryptomeria japonica* cv. *Urasebarusugi* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction. Arrowheads show the darker stained secondary constriction.

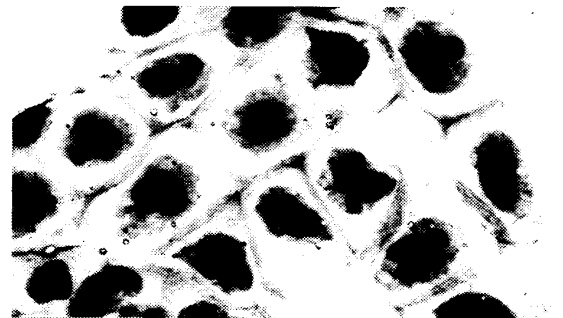


Fig. 74. Photomicrograph of nucleoli of *Cryptomeria japonica* cv. *Urasebarusugi*.

## (4) 柳 杉

Ag-I法で染色された浙江省産、江西省産の柳杉の体細胞分裂中期の染色体はFig. 75、Fig. 76に示した。両産地のものとも、2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染され、その2箇所がNORとして機能していることがわかった。また、両産地のいずれとも、間期核では1~2個、最大個数2個の核小体が観察され (Fig. 77、78)、核小体の最大個数とNORの数とは一致していた。したがって、本研究に用いた2産地の柳杉では、染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみがNORとして機能していた。

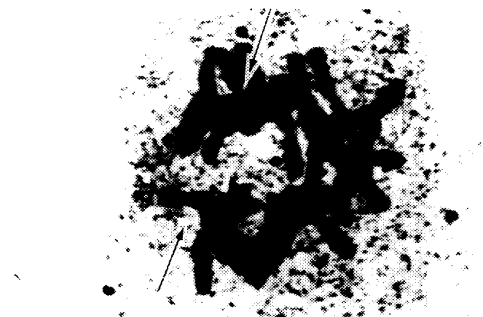


Fig. 75. Photomicrograph of *Cryptomeria fortunei* from Zhejiang stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.



Fig. 76. Photomicrograph of *Cryptomeria fortunei* from Jiangxi stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

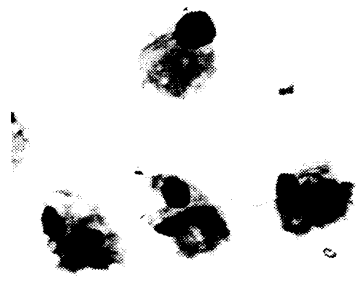


Fig. 77. Photomicrograph of nucleoli of *Cryptomeria fortunei* from Zhe jiang.

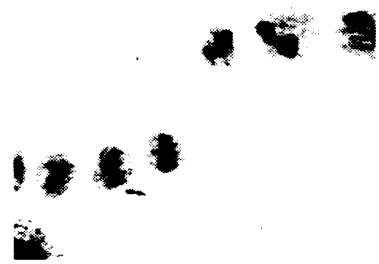


Fig. 78. Photomicrograph of nucleoli of *Cryptomeria fortunei* from Jiang xi.

### 3. コウヨウザン属

#### (1) コウヨウザン

Ag-I法で染色されたコウヨウザンの体細胞分裂中期の染色体はFig. 79に示した。2本の染色体の短腕末端部のみが濃染され、この2箇所がNORとして機能していることがわかった。また、間期核の核小体の最大個数は2個であり (Fig. 80)、NORの数と一致していた。したがって、コウヨウザンでは染色体短腕の末端部2箇所のみが、NORとして機能していた。



Fig. 79. Photomicrograph of *Cunninghamia lanceolata* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained trabant.

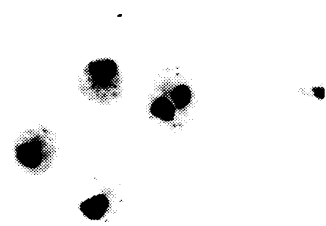


Fig. 80. Photomicrograph of nucleoli of *Cunninghamia lanceolata*.

#### (2) ランダイスギ

Ag-I法で染色されたランダイスギの体細胞分裂中期の染色体は、Fig. 81に示した通りである。2本の染色体の短腕末端部のみが濃染され、この2箇所がNORとして機能していることがわかった。間期核での核小体の最大個数は、2個であり (Fig. 82)、NORの数と一致していた。これらのことから、ランダイスギでは2本の染色体短腕の末端部のみが、NORとして機能していた。



Fig. 81. Photomicrograph of *Cunninghamia konishii* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained trabant.

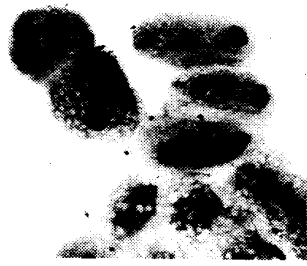


Fig. 82. Photomicrograph of nucleoli of *Cunninghamia konishii*.



Fig. 83. Photomicrograph of *Taiwania cryptomerioides* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

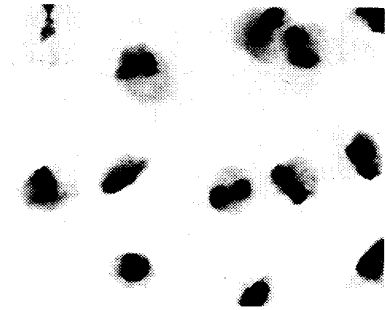


Fig. 84. Photomicrograph of nucleoli of *Taiwania cryptomerioides*.

## 5. ラクウショウ属

### (1) ラクウショウ

Ag-I法での染色されたラクウショウの体細胞分裂中期の染色体は、Fig. 85に示した。2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染され、この部位がNORとして機能していることがわかった。間期核での核小体の最大個数は2個で (Fig. 86)、NORの数と一致していた。これらのことから、ラクウショウでは染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが、NORとして機能していた。



Fig. 85. Photomicrograph of *Taxodium distichum* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

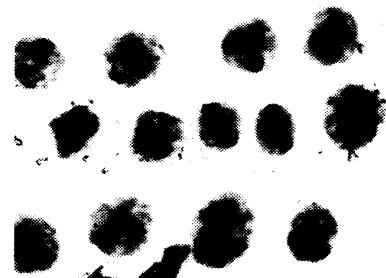


Fig. 86. Photomicrograph of nucleoli of *Taxodium distichum*.

## 4. タイワンスギ属

Ag-I法で染色されたタイワンスギの体細胞分裂中期の染色体は、Fig. 83に示した。2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染することから、この2箇所がNORとして機能していることがわかった。また、間期核での核小体の最大個数は2個であることから (Fig. 84)、中間付随体につながる長くくびれる部分のみが、NORとして機能していた。

## (2) メキシコラクウショウ

Ag-I法で染色された3倍体のメキシコラクウショウの体細胞分裂中期の染色体はFig. 87に示した。3本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染された。したがって、この長くくびれる特徴的な部位がNORとして機能していることがわかった。間期核の核小体の最大個数は3個であり (Fig. 88)、NORの数と一致し、それぞれのNORは1個の核小体と対応していると考えられた。また、3倍体で3個の核小体と、3箇所のNORが確認されたことから、3倍体であってもNORの核小体形成に関する機能的な抑制が生じていないことが明らかになった。



Fig. 87. Photomicrograph of *Taxodium mucronatum* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.



Fig. 88. Photomicrograph of nucleoli of *Taxodium mucronatum*.

## 6. スイショウ属

Ag-I法で染色されたスイショウの体細胞分裂中期の染色体はFig. 89に示した通りである。2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染され、この部位がNORであることがわかった。間期核の核小体の最大個数は2個であり (Fig. 90)、NORの数と一致していた。したがって、スイショウでは、中間付随体につながる長くくびれる部分のみが、NORとして機能していた。



Fig. 89. Photomicrograph of *Glyptostrobus pensilis* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

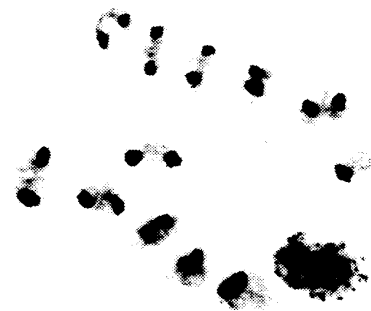


Fig. 90. Photomicrograph of nucleoli of *Glyptostrobus pensilis*.

## 7. セコイアメスギ属

Ag-I法で染色されたセコイアメスギの体細胞分裂中期の染色体はFig. 91に示した。6本の染色体短腕の末端部が濃染され、それら6箇所がNORとして機能していることがわかった。間期核の核小体の最大個数は6個であり (Fig. 92)、NORの数と一致していた。これらのことから、6倍体のセコイアメスギでは、染色体の末端に位置する付随体のみがNORとして機能しており、核小体の最大個数と

NORの数が一致していることから、それぞれのNORが1個の核小体に対応していると考えられた。また、NORと核小体の最大個数が一致していることから、6倍体であってもNORの核小体形成に関する機能的な抑制は生じていないことがわかった。



Fig. 91. Photomicrograph of *Sequoia sempervirens* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained trabant.



Fig. 92. Photomicrograph of nucleoli of *Sequoia sempervirens*.

#### 8. セコイアオスギ属

Ag-I法で染色されたセコイアオスギの体細胞分裂中期の染色体はFig. 93に示した。2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染され、この部位がNORであることがわかった。間期核の核小体の最大個数は2個であり (Fig. 94)、NORの数と一致していた。したがって、セコイアオスギでは、中間付随体につながる長くくびれる部分のみがNORとして機能していた。

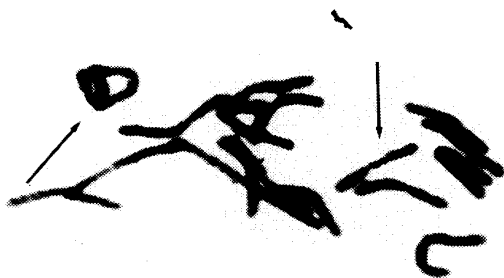


Fig. 93. Photomicrograph of *Sequoiadendron giganteum* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

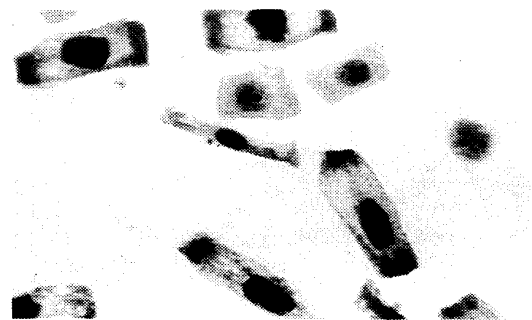


Fig. 94. Photomicrograph of nucleoli of *Sequoiadendron giganteum*.

#### 9. メタセコイア属

Ag-I法で染色されたメタセコイアの体細胞分裂中期の染色体はFig. 95に示した。6本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染され、この6箇所がNORであることがわかった。間期核の核小体の最大個数は6個であり (Fig. 96)、NORの数と一致していた。これらのことから、メタセコイアでは、中間付随体につながる長くくびれる部分のみが、NORとして機能していた。

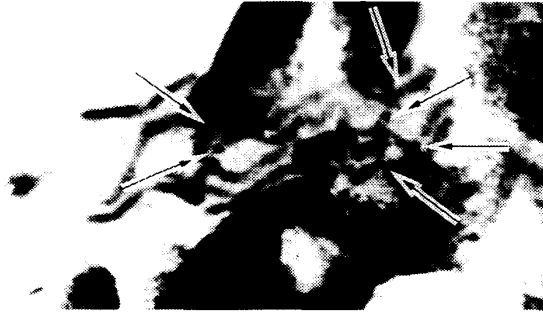


Fig. 95. Photomicrograph of *Metasequoia glyptostroboides* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

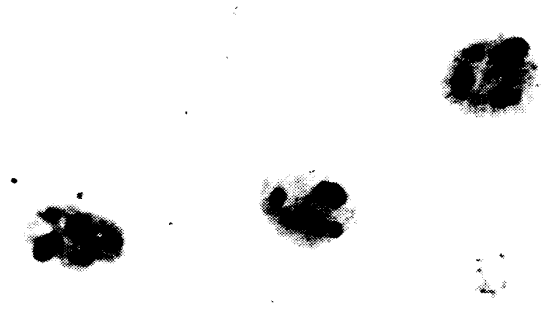


Fig. 96. Photomicrograph of nucleoli of *Metasequoia glyptostroboides*.

## 第2節 スギ科以外のNORと核小体

### 1. イチイ科

#### (1) イチイ

Ag-I法で染色されたイチイの体細胞分裂中期の染色体は、Fig. 97に示した。2本の間付随体につながる部分が濃染され、それらの部位がNORとして機能していることがわかった。間期核の核小体の最大個数は2個であり（Fig. 98）、NORの数と一致していた。これらのことから、イチイでは中間付随体につながる長くくびれる部分のみが、NORとして機能していた。



Fig. 97. Photomicrograph of *Taxus cuspidata* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

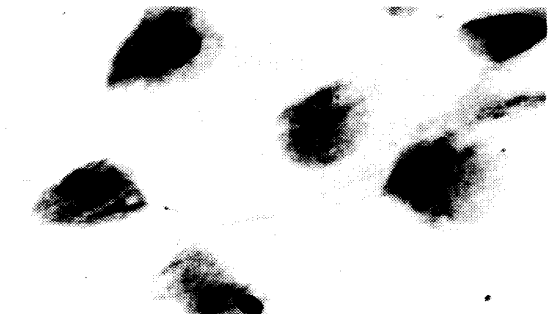


Fig. 98. Photomicrograph of nucleoli of *Taxus cuspidata*.

#### (2) カヤ

Ag-I法で染色されたカヤの体細胞分裂中期の染色体は、Fig. 99に示した。2本の染色体の介在部にある二次狭窄のみが濃染され、この部位がNORとして機能していることがわかった。間期核の核小体の最大個数は2個であり（Fig. 100）、NORの数と一致していた。これらのことから、カヤでは染色体腕の介在部に位置する二次狭窄が、NORとして機能していた。



Fig. 99. Photomicrograph of *Torreyia nucifera* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained secondary constriction.



Fig. 100. Photomicrograph of nucleoli of *Torreyia nucifera*.

## 2. ナンヨウスギ科

Ag-I法で染色されたブラジルアロウカリアの体細胞分裂中期の染色体はFig. 101に示した。2本の染色体の中間付随体につながる長くくびれる部分のみが濃染され、この部位がNORとして機能していることがわかった。間期核の核小体の最大個数は2個であり (Fig. 102)、核小体の数と一致していた。これらのことから、ブラジルアロウカリアでは、染色体の中間付随体につながる部分のみが、NORとして機能していた。

また、これまで本種のNORについて、Cardemilら<sup>11)</sup>は、中間付随体につながる長くくびれる部分がNORとして機能していることを報告しており、本研究の結果も、彼らの結果と一致していた。



Fig. 101. Photomicrograph of *Araucaria angustifolia* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained intercalary long constriction.

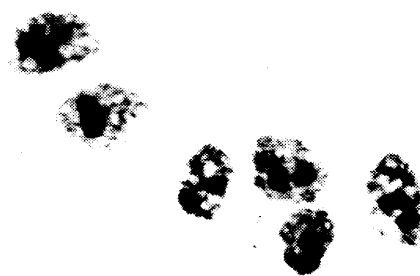


Fig. 102. Photomicrograph of nucleoli of *Araucaria angustifolia*.

## 3. ヒノキ科

Ag-I法で染色されたヒノキの体細胞分裂中期の染色体は、Fig. 103に示した。2本の染色体の介在部に位置する二次狭窄が濃染され、この部位がNORであることがわかった。間期核の核小体の最大個数は2個であり (Fig. 104)、NORの数と一致していた。これらのことから、ヒノキでは、染色体の介在部に位置している二次狭窄がNORとして機能していた。



Fig. 103. Photomicrograph of *Ch. obtusa* stained by the Ag-I method. Arrows indicate the darker stained secondary constriction.

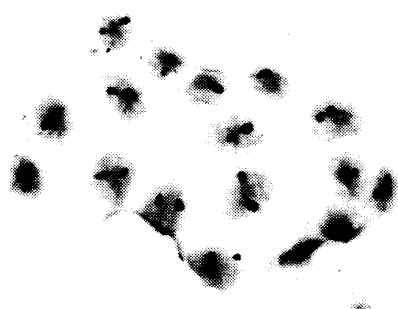


Fig. 104. Photomicrograph of nucleoli of *Ch. obtusa*.

### 第3節 NORと核小体に関する考察

これまで、球果植物でのNORの分染についての研究は極めて少なく、1983年に馬場<sup>3)</sup>、次いで1984年Cardemilら<sup>11)</sup>、馬場ら<sup>1)</sup>の報告があるにすぎない。

本研究で明らかになった樹種ごとのNORの部位と核小体の最大個数をまとめるとTable 32のようになった。供試したすべての樹種でNORの数と核小体の最大個数は一致していた。核小体の個数が単に

Table 32. Number of nucleoli and the locations of NORs

Genus name	Species name	Number of nucleoli at the maximum	Locations of NORs		
			Intercalary long constriction	Terminal region	Secondary constriction
<i>Sciadopitys</i>	<i>Sc. verticillata</i>	2	-	-	2
<i>Cryptomeria</i>	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Iwaosugi</i>	3	2	-	1
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Measa</i>	2	2	-	-
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Urasebarusugi</i> (triploid)	5	3	-	2
	<i>Cr. fortunei</i> (Zhe jiang)	2	2	-	-
	<i>Cr. fortunei</i> (Jiang xi)	2	2	-	-
<i>Cunninghamia</i>	<i>Cu. lanceolata</i>	2	-	2	-
	<i>Cu. konishii</i>	2	-	2	-
<i>Taiwania</i>	<i>T. cryptomerioides</i>	2	2	-	-
<i>Taxodium</i>	<i>Ta. distichum</i>	2	2	-	-
	<i>Ta. mucronatum</i> (triploid)	3	3	-	-
<i>Glyptostrobus</i>	<i>G. pensilis</i>	2	2	-	-
<i>Sequoia</i>	<i>Se. sempervirens</i>	6	-	6	-
<i>Sequoiadendron</i>	<i>S. giganteum</i>	2	2	-	-
<i>Metasequoia</i>	<i>M. glyptostrobooides</i>	6	6	-	-
<i>Taxus</i>	<i>Ta. cuspidata</i>	2	2	-	-
<i>Torreya</i>	<i>To. nucifera</i>	2	-	-	2
<i>Araucaria</i>	<i>A. angustifolia</i>	2	2	-	-
<i>Chamaecyparis</i>	<i>Ch. obtusa</i>	2	-	-	2

観察された個数ではなく、最大個数とされる理由は、DuProw<sup>18)</sup>が述べているように「1つの核内にある2つ以上の核小体は1つの核小体に融合し易いことから、実際の観察の際には、しばしば核小体の見



掛け上の個数が減少して観察される」ことにある。本研究でも、実際の顕微鏡下での核小体の観察では、観察個数が最大個数よりも少ない場合が多くみられた。したがって核小体の最大個数の確認は、幾つかの細胞を観察することによらなければならなかった。

また、Table 32から明らかなように、NORの個数と核小体の最大個数が一致していることから、常にNORと核小体の対応関係は1対1であると考えられた。このように、1箇所のNORが1個の核小体に対応していることから、核小体の最大個数を確認することは、すなわちNORの個数を確認することになるといえよう。

実際にNORを分染し、その位置と数を確認することには、かなりの労力と時間および染色体の分染技術が必要とされる。しかしながら、核小体の最大個数の確認はそれに比較し極めて容易で、しかも永久組織の休止核などでも行える利点がある。上述のように供試樹種ではNORと核小体は1対1の対応関係であることから、NORの数を確認するには、直接NORを分染しなくても、核小体の最大個数を数えることから間接的に推定できるといえる。NORは染色体の形態上の重要な表徴であることから、その数を容易に推定できることは染色体の形態に関する研究を行うにあたって極めて意味のあることと考えられる。本研究の結果、供試樹種のすべてについて従来のような核型分析などの方法によって染色体を直接観察するのではなく、核小体の数から、NORとして機能している狭窄の数を知ることができることがわかった。この核小体の最大個数からNORの数を認識する方法は、極めて容易な新しい方法による「核型」の認識法の一つと考えられる。

## 第V章 相対的DNA量の測定

従来、林木の染色体に関する研究では、染色体の相対長、腕比などの比較を行うことにより樹種間の違いが論議されてきた。しかし、染色体の本体であるDNA量が樹種間で大きく異なると、全構成染色体の長さの合計も異なっていることから、染色体の相対長の直接的な比較は簡単に行えないことが考えられる。「第III章の核型分析」では、染色体の長さの表示にすべて相対長を用いたが、少なくとも種間ではなく、種より上のオーダーである属あるいは科の間での染色体の相対長の比較を行うには、染色体の欠失や重複などの全構成染色体の長さの合計に違いを生じるような構造変化（DNA量の増減をともなう染色体の構造変化）が引き起こされた可能性が否定できないように思われる。本研究に用いたスギ科のように多くの樹種が1属1種であり、属内ではなく属間での染色体の相対長の比較を行わなければならない場合には、その前提として染色体の長さ（全構成染色体の絶対長の合計）に大きな違いがないことが必要とされるように思われる。また、核型で属間や科間での比較が行えるならば、染色体の本体であるDNA量の違いからも同様な比較が行えることが考えられる。本章では、以上のような観点から相対的DNA量の違いについて検討を試みた。

### 1. 相対的DNA量の測定結果

供試したスギ科11種、ヒノキ科2種、計13種の相対的DNA量を図示するとFig. 105のようになった。測定値にかなりの変動幅がみられたが、6倍体であるセコイアメスギが最もDNA量が多く、次いで2倍体のコウヤマキであった。3倍体のメキシコラクウショウは2倍体のコウヤマキよりもDNA量が少なかった。セコイアメスギとコウヤマキを除くと3倍体のメキシコラクウショウと2倍体のスギ、コウヨウザン属のコウヨウザンとランダイスギおよびタイワンスギの4種はほぼ似たようなDNA量であった。また、それら4種にくらべラクウショウ、スイショウ、セコイアオスギ、ヒノキ、サワラのDNA量は比較的少なかった。Fig. 105では6倍体であるセコイアメスギも3倍体であるメキシコラクウショウも2倍体と同じくDNAの全量で表示したが、染色体の基本数、コウヤマキでは $x=10$ 、それ以外の樹種は $x=11$ が染色体構成の基本単位であるゲノム (genome) と考えられるから、それぞれの樹種の

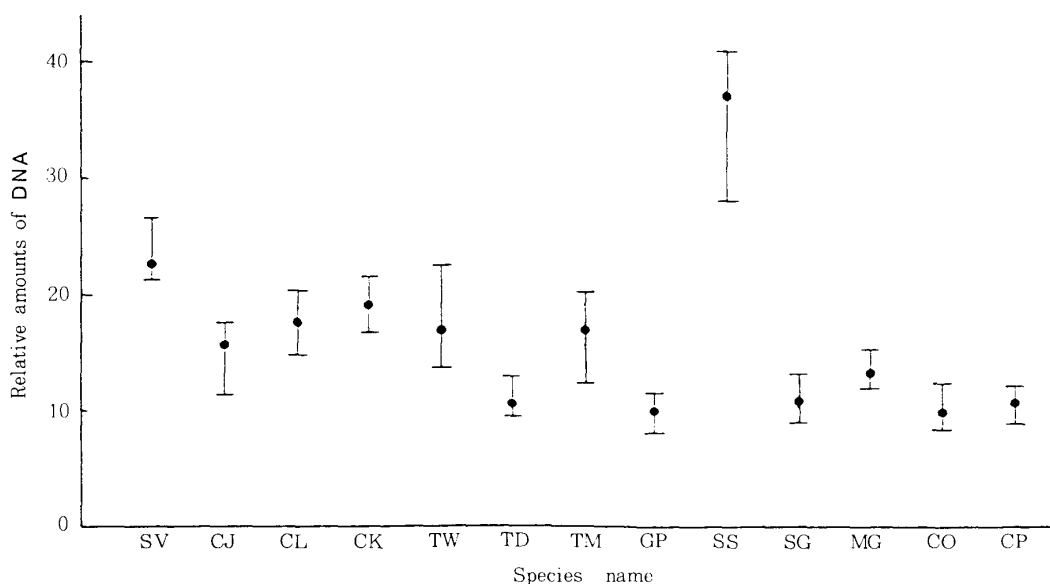


Fig. 105. Relative amounts of DNA. SV, *Sciadopitys verticillata*; CJ, *Cryptomeria japonica* cv. *Measa*; CL, *Cunninghamia lanceolata*; CK, *Cunninghamia konishii*; TW, *Taiwania cryptomerioides*; TD, *Taxodium distichum*; TM, *Taxodium mucronatum*; GP, *Glyptostrobus pensilis*; SS, *Sequoia sempervirens*; SG, *Sequoiadendron giganteum*; MG, *Metasequoia glyptostroboides*; CO, *Chamaecyparis obtusa*; CP, *Chamaecyparis pisifera*. Bar, maximum and minimum.

Table 33. Relative amounts of DNA

Species name	SV	CJ	CL	CK	TW	TD	TM	GP	SS	SG	MG	CO	CP
Chromosome number (2n)	20	22	22	22	22	22	33	22	66	22	22	22	22
Relative amounts of DNA (mean value)	22.7	15.7	17.5	18.9	17.0	10.5	17.0	9.9	37.1	10.8	13.4	9.9	10.8
Relative amounts of DNA / genome	11.4	7.9	8.8	9.5	8.5	5.3	5.7	5.0	6.2	5.4	6.7	5.0	5.4

Species name : SV, *Sciadopitys verticillata* CJ, *Cryptomeria japonica* cv. *Measa*; CL, *Cunninghamia lanceolata*; CK, *Cu. konishii*; TW, *Taiwania cryptomerioides*; TD, *Taxodium distichum*; TM, *Ta. mucronatum*; GL, *Glyptostrobus pensilis*; SS, *Sequoia sempervirens*; SG, *Sequoiadendron giganteum*; MG, *Metasequoia glyptostroboides*; CO, *Chamaecyparis obtusa*; CP, *Ch. pisifera*.

DNA量をゲノムあたりに換算し、平均値で表示するとTable 33のようになった。ゲノムあたりのDNA量が最も多いのはコウヤマキであり、次いでコウヨウザン属の2種とタイワンスギであった。

このように樹種間のゲノムあたりのDNA量に違いがみられたので、分散分析を行うと、樹種間に明らかな有意差があることがわかった (Table 34)。したがって、樹種間のゲノムあたりのDNA量について有意差の検定を行うとTable 35のようになった。Table 35から明ら

Table 34. Analysis of variance table for the relative amounts of DNA per genome

Source	DF	SS	MS	F
Species	12	599.46	49.96	73.47**
Error	137	92.97	0.68	
Total	149	692.43		

DF, degree of freedom ; SS, sum of square ; MS, mean square

\*\* : significant at 1% level

Table 35. Test of significance for the relative amounts of DNA per genome

Species name	CO	GP	TD	SG	CP	TM	SS	MG	CJ	TW	CL	CK	SV

Bar, non-significant at 1% level. CJ, *Cryptomeria japonica* cv. Measa; CK, *Cunninghamia konishii*; CL, *Cunninghamia lanceolata*; CO, *Chamaecyparis obtusa*; CP, *Chamaecyparis pisifera*; GP, *Glyptostrobus pensilis*; MG, *Metasequoia glyptostroboides*; SG, *Sequoiadendron giganteum*; SS, *Sequoia sempervirens*; SV, *Sciadopitys verticillata*; TD, *Taxodium distichum*; TM, *Taxodium mucronatum*; TW, *Taiwania cryptomerioides*.

かなように同じ属に分類されるヒノキとサワラ、ラクウショウとメキシコラクウショウ、コウヨウザンとランダイスギにはゲノムあたりのDNA量に有意な差がみられなかった。また、ヒノキ科の2種（ヒノキ、サワラ）とスギ科のスイショウ、ラクウショウ、セコイアオスギ、メキシコラクウショウ、セコイアメスギの間では有意差はなく、1つのまとまりがみられた。メタセコイアはセコイアメスギとのみ有意差がなく、残りはすべての樹種と有意差があった。スギ（メアサ）はタイワンスギ、コウヨウザンと有意差がなかった。同じくタイワンスギはスギ、コウヨウザン、ランダイスギと、コウヨウザンはスギ、タイワンスギおよびランダイスギと有意差がなかった。このようにスギとランダイスギの間に有意差はあるが、ランダイスギはタイワンスギおよびコウヨウザンとは有意差がなく、スギもタイワンスギおよびコウヨウザンスギとは有意差がないことから、スギ、タイワンスギ、コウヨウザン、ランダイスギはDNA量ではほぼ1つのまとまりをもっているともみなせた。コウヤマキのDNA量は多く、すべての樹種と有意差を示した。

## 2. 相対的DNA量に関する考察

DNAの定量には、前述のように直接DNAを抽出し定量する方法、核容積の値からDNA量を求める方法、顕微分光濃度計を用いる方法などがあるが、本研究では走査型積分顕微分光濃度計を用いて定量を行った。しかし、この方法では基準試料を用いなければ絶対量には換算できず、本研究の値はすべて相対量として表示してある。球果植物を含む裸子植物のDNA量については、これまでPriceら<sup>99)</sup>が236種もの多くの樹種に関して、核容積からDNA量を推定した報告がある。この報告の中でもコウヤマキは他のスギ科にくらべてDNA量が多く、スギ科の樹種のDNA量が9~16pg/genomeに対してコウヤマキは23.3pg/genomeであり、スギ科のDNA量よりもむしろマツ科のDNA量に近い値であることが指摘されている。したがって、本研究の結果およびPriceら<sup>99)</sup>の指摘を考え合わせると、DNA量では、コウヤマキはスギ科ではなく、別科として分類することが適当と思われた。また、コウヤマキ以外のスギ科のDNA量についてPriceらはスギ、コウヨウザン、タイワンスギ、メタセコイアが15~16pg/genome、セコイアメスギが12.5pg/genome、スイショウ、セコイアオスギ、ヒノキ、サワラが7~11pg/genomeであると報告している<sup>99)</sup>。本研究の結果とくらべるとメタセコイアのDNA量がスギ、コウヨウザンなどに近い値となっており本研究の結果よりもやや多くなっていることを除けば、ほぼ類似した傾向とみなせた。本研究ではDNAの基準試料を用いていないので相対値で表示したが、Priceらの絶対値を基準にすると、本研究での値はPriceらのDNA量の約半量程度の値を示していることがわかった。

本研究の結果、スギ科の同属内のコウヨウザンとランダイスギ、ラクウショウとメキシコラクウショウの間ではゲノムあたりのDNA量に有意な差がなかったことから、スギ科のように属内の種の分化があまりみられず、多くても1属2~3種程度の種構成では種の分化にDNA量が大きく違うほどの染色体の構造変化が生じていないこと、あるいは種の分類そのものをもう一度見直す必要があることも考えられる。しかしながら、属間のDNA量でもスイショウ属、ラクウショウ属、セコイアオスギ属、セコ

イアメスギ属間には有意差がなく、スギ属、タイワンスギ属、コウヨウザン属間には有意差がないことから、種間のみならず属間においてもDNA量の増減をとまなわない分化が生じていると考えられ、同属内の種間ではDNA量には大きな違いがないこともうなずける。

また、本研究の相対的DNA量の測定に用いることができなかったタスマニアシーダー属の *Athrotaxis selaginoides*、イチイ、カヤおよびブラジルアロウカリアのDNA量をPriceら<sup>99)</sup>から引用すると、それぞれ13、22~28、29、14pg/genomeとなっており、イチイとカヤはスギ科のDNA量にくらべて多く、*Athrotaxis selaginoides*とブラジルアロウカリアはスギ科のDNA量の範囲内とされている。

## 第Ⅵ章 総合考察

### 1. 核型とNORおよび核小体について

これまで、球果植物のNORに関する研究は少なく、いわゆる二次狭窄などの一次狭窄以外の狭窄とNORの明確な識別が行われていないことが多かった。本研究で明らかにすることができたNORの位置と数、核小体の最大個数および核型分析によって明らかにすることができた中間付随体、付随体と染色体腕をつなぐ長くくびれる狭窄部分、染色体腕の介在部に位置する二次狭窄（以下、これらの狭窄を一次狭窄以外の狭窄と総称する）の位置と数をまとめTable 36に示した。この表から明らかなように、NORの数と核型分析で確認された一次狭窄以外の狭窄の個数が一致することから、核型分析で確認されたすべての一次狭窄以外の狭窄がNORとして機能しているといえる。したがって、付随体染色体が6本のセコイアメスギ、中間付随体染色体が6本のメタセコイア、3倍体で中間付随体染色体が3本と二次狭窄染色体2本計5箇所の一次狭窄以外の狭窄を有するウラセバルスギでも、それら狭窄の数、

Table 36. Numbers and locations of NORs, the trabant and the secondary constriction

Genus name	Species name	Total number of trabant and secondary constriction	Number of nucleolus at the maximum	Locations of trabant and secondary constriction		
				Intercalary long constriction with trabant	Terminal constriction with trabant	Secondary constriction
<i>Sciadopitys</i>	<i>Sc. verticillata</i>	2	2	-	-	2
<i>Cryptomeria</i>	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Iwaosugi</i>	3	3	2	-	1
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Measa</i>	2	2	2	-	-
	<i>Cr. japonica</i> cv. <i>Urasebarusugi</i> (triploid)	5	5	3	-	2
	<i>Cr. fortunei</i> (Zhe jiang)	2	2	2	-	-
	<i>Cr. fortunei</i> (Jiang xi)	2	2	2	-	-
<i>Cunninghamia</i>	<i>Cu. lanceolata</i>	2	2	-	2	-
	<i>Cu. konishii</i>	2	2	-	2	-
<i>Taiwania</i>	<i>T. cryptomerioides</i>	2	2	2	-	-
<i>Taxodium</i>	<i>Ta. distichum</i>	2	2	2	-	-
	<i>Ta. mucronatum</i> (triploid)	3	3	3	-	-
<i>Glyptostrobus</i>	<i>G. pensilis</i>	2	2	2	-	-
<i>Sequoia</i>	<i>Se. sempervirens</i>	6	6	-	6	-
<i>Sequoiadendron</i>	<i>S. giganteum</i>	2	2	2	-	-
<i>Metasequoia</i>	<i>M. glyptostroboides</i>	6	6	6	-	-
<i>Taxus</i>	<i>Ta. cuspidata</i>	2	2	2	-	-
<i>Torreya</i>	<i>To. nucifera</i>	2	2	-	-	2
<i>Araucaria</i>	<i>A. angustifolia</i>	2	2	2	-	-
<i>Chamaecyparis</i>	<i>Ch. obtusa</i>	2	2	-	-	2

NORの数、核小体の最大個数がすべて一致していた。このように、NORの数が5～6箇所と多い樹種においても、一次狭窄以外の狭窄の数とNORの数、すなわち核小体の最大個数が一致していることから、NORの核小体形成に関する機能的な抑制が生じていないことが明らかになった。

以上のようにNORの機能的な抑制が生じていないことから、核小体の最大個数を確認することは、NORの数すなわち一次狭窄以外の狭窄の数を確認することになる。第IV章で述べたように核小体の最大個数の確認は、核型分析によって一次狭窄以外の狭窄部分を確認するよりも極めて容易に、しかも分裂組織以外でも行える利点がある。核小体の最大個数の確認から得られるNORの個数に関する情報は、核型分析によって得られた一次狭窄以外の狭窄の数に関する情報と同じことであるから、核型分析なしに休止核あるいは間期核の観察によって、核型分析と同じNORとして機能している狭窄の数に関する情報を得ることが可能といえる。このことは、従来から行われている細胞分裂中期の染色体の形態を観察せずに、核型に関する情報が得られることから、Stebbins<sup>129)</sup>、田中<sup>140,141)</sup>が提唱するような「分裂中期以外の時期の観察による新しい核型」の認識方法の1つとも考えられる。また、本研究で得られたNORと一次狭窄以外の狭窄の関係を1つの例として3倍体までのスギにあてはめ実際に利用するならば、次のように考えることができる：

核小体の最大個数2個のもの：2倍体で中間付随体染色体を1対2本有する

核小体の最大個数3個のもの：3倍体で3本の中間付随体染色体を有するか、2倍体で2本の中間付随体染色体と第6染色体の1本に二次狭窄を有する

核小体の最大個数4個のもの：3倍体で3本の中間付随体染色体と第6染色体の1本に二次狭窄を有するか、2倍体で2本の中間付随体染色体と第6染色体の2本に二次狭窄を有する

核小体の最大個数5個以上のもの：3倍体以上の倍数体として識別されることになる。

以上のように、これまで球果植物ではほとんど明らかにすることができなかつたNORを分染し、核型における一次狭窄以外の狭窄の数とNORの数および核小体の最大個数の関係から、林木育種、特に交配実験などに比較的簡単に利用できる新しい解析方法の1つが得られたともいえよう（後述、4. 林木育種での核型の利用と今後の課題）。しかしながら、核小体はリボソームRNAに富みリボソーム合成の場であるといわれているが<sup>18)</sup>、その生理的な機能などに関しては、現在もなお不明な点が多い。今後さらに核小体に関する研究が進展し、核小体の機作が明らかにされることによって、本研究で得られた樹種による核小体の最大個数の違いとその意味、メタセコイアやセコイアメスギでは、何故に6個のNORが必要とされるのかなどの疑問に対する答えが得られるものと思われる。

## 2. 核型と相対的DNA量について

従来、林木での核型分析では、種内および種間の違いを明らかにするために腕比、相対長などについて分散分析が行われることが多かった<sup>72,93,100,147)</sup>。この分散分析の中で、腕比についてはそれぞれの染色体に固有の値であることから、絶対値あるいは相対値で表示してもなんらその値が変わることはない。したがって、分散分析が可能である。しかしながら、相対長の分散分析を行うにあたっては、比較する2種間にDNA量の違いがないことを前提としなければならないと思われる。本研究では核型分析に供試した樹種のうち13種についてのみDNAの定量を行った。その結果、同属内の樹種間にはDNA量に大きな違いがなく、属間にもDNA量の違いがあることがわかった（Table 35）。したがって、DNA量に違いのある属間では相対長を用いて分散分析が行えないことになる。

核型分析の結果、スギ科には特徴的な染色体として中間付随体染色体と付随体染色体があり、中間付随体染色体と付随体染色体の関係は、その形態からみて逆位によって生じた可能性が考えられた。第III章では、それら特徴的な染色体の腕比についてのみ分散分析を行ったが、DNA量に有意な差がなかった

樹種間では (Table 35)、染色体の相対値に関しても分散分析が行える。したがって、DNA量の有意差検定の結果、同一グループとみなしても差し支えないと考えられたヒノキ、スイショウ、ラクウショウ、セコイアオスギ、サワラ、メキシコラクウショウ、セコイアメスギのうち中間付随体染色体を有しないヒノキ科の2種を除く5種と、もう1つのグループのスギ (メアサ)、タイワンスギ、コウヨウザン、ランダイスギについて分散分析を試みた。その結果、いずれのグループにも有意差があることがわかった (Table 37, 38)。それぞれのグループに含まれる種間の有意差の検定結果はTable 39, 40に示した。セコイアオスギの中間付随体染色体はラクウショウ、スイショウ、メキシコラクウショウの中間付随体染色体およびセコイアメスギの付随体染色体と有意差があった。ラクウショウ、スイショウ、メキ

Table 37. Analysis of variance table for the total length of chromosomes

Source	DF	SS	MS	F
Species	4	172.87	43.22	154.36**
Error	117	33.07	0.28	
Total	121	205.94		

DF, degree of freedom ; SS, sum of square ; MS, mean square

\*\* : significant at 1% level

Table 38. Analysis of variance table for the total length of chromosomes

Source	DF	SS	MS	F
Species	3	70.59	23.53	57.39**
Error	84	34.83	0.41	
Total	87	105.42		

DF, degree of freedom ; SS, sum of square ; MS, mean square

\*\* : significant at 1% level

シコラクウショウの中間付随体染色体相互間では有意差はなかった。セコイアメスギの付随体染色体は、中間付随体染色体と明らかに形態的に異なっているのみならず、染色体の長さでも有意差があることがわかった。DNA量が比較的多いスギ (メアサ)、タイワンスギ、コウヨウザン、ランダイスギの染色体長では、スギがすべての樹種と有意差を示し、残り3種の相互間には有意な差は認められなかった。また、メアサ以外のスギ2品種 (イワオスギ、ウラセバルスギ) と2産地の柳杉についてはDNA量の測定を行っていないが、本研究のDNA量の測定では属内にはゲノムあたり

のDNA量に大きな違いがみられず、統計的にも有意な差が認められなかったことから、メアサおよびイワオスギ、ウラセバルスギと柳杉 (2産地) の中間付随体染色体の染色体長についても一応分散分析を試みた。その結果はTable 41に示した通りであり、スギ3品種と2産地の柳杉の中間付随体染色体の間には有意な差はみとめられないことがわかった。

また、核型分析の結果、染色体の長さのばらつきを示すLSRと特徴的な染色体である中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体の有無、染色体数などからスギ科を第I~第IVグループに分けた。

Table 39. Test of significance for the relative total length of chromosomes possessed the intercalary trabant or the trabant

Species name	SG	TD	GP	TM	SS

Bar, non-significant at 1% level. GP, *Glyptostrobus pensilis* ; SG, *Sequoiadendron giganteum* ; SS, *Sequoia sempervirens* ; TD, *Taxodium distichum* ; TM, *Taxodium mucronatum*

Table 40. Test of significance for the relative total length of chromosomes possessed the intercalary trabant or the trabant

Species name	CJ	TW	CK	CL

Bar, non-significant at 1% level. CJ, *Cryptomeria japonica* cv. *Measa* ; CK, *Cunninghamia konishii* ; CL, *Cunninghamia lenceolata* ; TW, *Taiwania cryptomerioides*

それらグループについて、ゲノムあたりのDNA量を比較してみると、第Iグループはコウヤマキのみであるが、このグループはDNA量からみても明らかに他のグループと有意差があり、独立したグループと考えられる。第IIグループはa（スイショウ属、ラクウショウ属）、b（スギ属）2つのサブグループに分けた。両サブグループのDNA量には有意な差があり、DNA量を考え合わせるとサブグループ

ではなく、別の独立したグループとして区別できると思われる。第IIIグループはセコイアメスギのみであり、全DNA量がスギ科の中で最も多く、しかも6倍体で染色体数が $2n=66$ であることから、独立したグループ分けが可能と考えられる。第IVグループはa（セコイアオスギ属）とb（メタセコイア属）の2つのサブグループに分けたが、両サブグループはゲノムあたりのDNA量で有意な差があり、DNA量を考える合わせると、同一グループ内のサブグループではなく独立したグループに分けて考えることが妥当と思われる。第V（タイワンスギ属）、第VI（コウヨウザン属）グループの間にはDNA量では有意な差はなかったが、染色体構成では前者に中間付随体染色体が、後者に付随体染色体があり、このことによって両グループは明確な区別が可能であるといえる。以上のように、核型とDNA量の両方から検討して、スギ科は以下の8グループに分けて考えられる。なお、以下の8グループの配列については、第III章ではほぼLSRの値の順に基づいたので、そのままの順とし、分類学的な配列順序に基づいてはいない。

第Iグループ：コウヤマキ属

第IIグループ：スイショウ属、ラクウショウ属

第IIIグループ：スギ属

第IVグループ：セコイアメスギ属

第Vグループ：セコイアオスギ属

第VIグループ：メタセコイア属

第VIIグループ：タイワンスギ属

第VIIIグループ：コウヨウザン属

これらのグループ分けの中で、第IIグループだけがスイショウ属とラクウショウ属の2属からなっている。スイショウ属とラクウショウ属では、前者の中間付随体染色体は第9染色体であり、後者のそれは第10染色体であるが、両属の中間付随体染色体の腕比、相対長のいずれについても、有意差がなく、しかもゲノムあたりのDNA量でも有意な差がないことから、両属を核型およびDNA量から容易に識別することはむずかしいといえる。また、両属を分布からみると前者は中国のみに、後者は北米の大西洋岸からメキシコ湾岸を経てメキシコに分布しているが、両属はいずれも落葉あるいは半常緑の高木で、湿地に生育する特性をもっていることなど、外部形態や生育特性ではスギ科の中で特に2属の共通性が高いようにも思われる。したがって、両属の現在の分布は大きく隔たっているとはいえ極めて近い類縁関係にあることが考えられる。

以上のように、スギ科は核型分析の結果（特徴的な染色体の構成、染色体数、構成染色体の長さのばらつきを表すLSR）とDNA量の違いの両方からみて、グループ分けが可能であることがわかった。したがって、単に外部形態による分類のみならず、核型やDNA量など細胞遺伝学的にもある程度の分類が可能になったことが明らかになった。

また、核型分析の結果のみならず、DNA量の違いからみても、コウヤマキはスギ科から独立させ、コウヤマキ科と分類すべきことが妥当であると考えられる。

Table 41. Analysis of variance table for the total length of chromosomes

Source	DF	SS	MS	F
Species	4	0.25	0.063	0.231 <sup>-</sup>
Error	73	19.91	0.273	
Total	77	20.16		

DF, degree of freedom ; SS, sum of square ; MS, mean square  
<sup>-</sup> : non-significant

### 3. 核型からみたスギ科の種の分化と類縁について

核型分析とNORの分染の結果、スギ科には染色体の形態からみて特徴的で、他の染色体と容易に区別することができる中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体があることがわかった。これら3タイプの特徴的な染色体の数は、メタセコイア属では中間付随体染色体が3対、スギ属では中間付随体染色体1対と二次狭窄染色体を、それ以外のスギ科では中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体のいずれかを1対有していることが明らかになった。スギ科以外の供試樹種では、イチイ科のイチイとナンヨウスギ科のブラジルアロウカリアは中間付随体染色体を1対、イチイ科のカヤとヒノキ科のヒノキは二次狭窄染色体を1対有していた。このように、すべての供試樹種とも3タイプの特徴的な染色体のいずれかを最低でも1対有していた。また、それらすべての一次狭窄以外の狭窄はNORとして機能しており、供試樹種は最低2箇所のNORを有していた。核小体の最大個数は、NORの数に対応して最低では2個であった。これら3タイプの特徴的な染色体のうち、中間付随体染色体と付随体染色体の両タイプの染色体の関係は、第Ⅲ章で述べたように動原体に近接した部分から切断し、逆位を生じたと推測される。この逆位ではNORの増減はともなっていない。また、これら両タイプの染色体ともう1つの特徴的な染色体である二次狭窄染色体との関係も、中間付随体染色体と付随体染色体との関係同様に、染色体の切断と逆位によって説明できるのではないだろうか。すなわち付随体染色体の腕部が切れて、それが逆位を生じるときに、付随体の消失をともなうと仮定すると、付随体染色体がNORの機能をもった二次狭窄染色体となることが考えられる。中間付随体染色体から二次狭窄染色体が生じたと仮定すると、動原体に近接した部分と染色体の腕部での2箇所の切断と逆位、それにとまう付随体の消失によって二次狭窄染色体となったと説明できる。この染色体の構造変化を簡単に換言するならば、染色体の動原体に近接した部分あるいは染色体の末端に位置していたNORが、逆位をとまう染色体の構造変化によって染色体腕の介在部に位置するようになったといえる。このことは二次狭窄が単なる染色体上に位置する異質染色質などの不染部分ではなく、中間付随体および付随体染色体が有する狭窄の機能と同様にNORとして機能している狭窄であることから否定できないように思われる。このスギ属の二次狭窄染色体が、中間付随体染色体あるいは付随体染色体からの構造変化によって生じたものとするならば、現生のスギ属の祖先には中間付随体染色体あるいは付随体染色体が最低2対なければ説明がつかないことになる。本研究の核型分析とNORの分染結果から、これまで報告されたことのない新知見としてメタセコイアには中間付随体染色体が3対確認され、それら3対の一次狭窄以外の狭窄がすべてNORとして機能していることが明らかになったことは、スギ属の祖先も最低2対以上の中間付随体染色体あるいは付随体染色体を有していたことを示唆している。また、スギ属の二次狭窄染色体への染色体の構造変化、すなわち中間付随体染色体あるいは付随体染色体からの二次狭窄染色体への構造変化は、必ずしも同一染色体上ではなく、染色体相互間での構造変化が生じたとも考えられる。しかし、染色体相互間での構造変化が生じたとしても、最低2対の中間付随体染色体あるいは付随体染色体が、その祖先に必要とされる。

以上のような仮定に基づいて、スギ科の祖先は、最低2対の中間付随体染色体あるいは付随体染色体を有していたことになるが、メタセコイアに中間付随体染色体が3対認められたことから、現存しない絶滅したスギ科の祖先は、少なくとも3対以上中間付随体染色体あるいは付随体染色体を有していたと考えられる。この3対以上中間付随体染色体を有する絶滅種が基本となり、現存するスギ科がそれぞれに分化したことが推測される。3対ではなく4対以上の中間付随体染色体を有するものが祖先となっているとするならば、メタセコイアへの分化は、中間付随体染色体のNORが消失する形で進行し、3対の中間付随体染色体のみを有するものが祖先となっているとするならば、メタセコイアはそれらを半保存的あるいは染色体の相互転座などにより、染色体間での構造変化を生じながらも中間付随体を消失することなく今日まで保持していることになる。このように中間付随体染色体を少なくとも3対もつメ



タセコイアのような樹種が祖先となっていると考えるならば、スギ属のように1対の中間付随体染色体と二次狭窄染色体を有する樹種は、3対の中間付随体染色体の1対を種の分化の過程で消失し、1対を半保存的に、1対を染色体の切断と逆位によって染色体腕の介在部の二次狭窄であるNORへと組換えたと説明できる。また、この二次狭窄は、さらに染色体の構造変化によりスギの中からも失われつつあり、それが第6染色体をヘテロにもつI型品種あるいは、まったく失ってしまったO型品種であると推測できる。中間付随体染色体を1対有し、二次狭窄染色体を有しないタイワンスギ属、ラクウショウ属、スイショウ属、セコイアオスギ属については、種の分化の過程で3対の中間付随体染色体のうち1対のNORを半保存的に保持し、残りを消失してしまつたと推測される。また、中間付随体染色体を有せず、付随体染色体のみを1対有するセコイアメスギ属、コウヨウザン属は種の分化の過程で中間付随体染色体のNORを2対消失し、残り1対の中間付随体が染色体の逆位によって、染色体の末端に位置したと考えられる。

しかしながら、染色体の構造変化は、可逆的に生じることから、上述のようなNORを消失(減少)する方向での種の分化ではなく、NORを増加させる方向での種の分化も仮定できる。この仮定を成立させるためには、染色体数の倍加が生じるか、NORの重複が生じなければならない。スギ科の染色体数はコウヤマキを除けばすべて基本数 $x=11$ であり、しかもセコイアメスギのみが6倍体、残りは2倍体である。そうすると、メタセコイアの3対のNORとスギの2対のNORはいずれも1対のNORを有するものからの重複によって生じたことになる。しかしながら、メタセコイアの染色体数が $2n=22$ と多くのスギ科と同数であることから、1対から3対のNORを有する樹種への分化には、染色体数の増加が生じていない。そうすると、少なくとも2回のNORのみの重複が生じたことが仮定されなければならない。このNORの増加の過程が染色体数の増加にともなう生じたとするならば、NORの消失(減少)よりも可能性が大きい。しかし、現存するスギ科ではセコイアメスギ以外に染色体数を増加した樹種はなく、染色体数の増加によってNORが増加したとはいえない。このように考えると、NORの増加ではなく、減少として解釈することがより妥当と考えられる。

また、本研究で確認されたスギ科の中間付随体染色体と同形の染色体は、本研究の結果やCerdemilら<sup>11)</sup>の報告からもナンヨウスギ科、イチイ科のイチイに認められている。スギ科よりも起源が古く中生代はじめには分布していたナンヨウスギ科<sup>19,47)</sup>が中間付随体染色体を有していること、ナンヨウスギ科よりも裸子植物としてはさらに起源が古く、古生代の終わりごろには分布していたソテツ類にも<sup>47)</sup>、中間付随体染色体と同様の染色体が認められることは<sup>97)</sup>、この中間付随体染色体が古いタイプの染色体であることの1つの証拠とも考えられる。これまでの研究では、スギ属以外に中間付随体染色体と二次狭窄染色体の両方を有する球果植物の報告はみあたらない。中間付随体染色体を有しない球果植物にはイチイ科のカヤ属、ヒノキ科が報告されている<sup>72,87)</sup>。マツ属<sup>72,87)</sup>でも中間付随体染色体は観察されず、二次狭窄染色体のみが認められている。また、Suzuki<sup>134)</sup>が指摘するようにイチイ科のイチイとカヤの樹脂道の走向のパターンからみた進化がイチイ→カヤであるとするならば、中間付随体染色体→二次狭窄染色体での種の分化が支持されるようにも思われる。

以上のように、球果植物の染色体からの種の分化あるいは類縁では、本研究で確認された中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体が重要な意味をもっており、これらの3タイプの染色体をマーカーとして、球果植物の核型をもう一度整理しておく必要性が考えられる。

また、前述のように、核型およびDNA量の違いからコウヤマキを別科であるコウヤマキ科に分類するならば、スギ科は中間付随体染色体と付随体染色体を必ず有することになる。そうすると、スギ科の核型の特徴としては、必ず中間付随体染色体か付随体染色体のいずれかを有すると結論づけることができる。付随体染色体を有する樹種はコウヨウザン属とセコイアメスギ属の2属のみである。この2属の現在の分布は前者が台湾、中国、後者は北米大陸の太平洋岸で、染色体数も $2n=22$ と $2n=66$ と異なっている。しかし、スギ科の中で常緑のタイワンスギ属、セコイアオスギ属はスギ属同様に葉の形態が針葉状

であるのに対して、コウヨウザン属とセコイアメスギ属の葉は、落葉あるいは半常緑のメタセコイア属の葉のように線形または線状披針形で偏平であり、下面の主脈の左右に2条の白色の気孔溝をもち、両属とも切株から萌芽しやすい樹種特性を有するなど極めて類似した特徴をもっている<sup>163)</sup>。したがって、染色体数は2倍体と6倍体で大きく異なっているが、ともに中間付随体染色体を有せず、付随体染色体を有すること、類似の針葉形態と樹種特性をもつことから、スギ科のなかでもこの2属は類縁関係が近いことが考えられ、付随体染色体を有する共通の祖先から両属が生じ、セコイアメスギ属は染色体の倍加によって、現存種へ、コウヨウザン属は染色体の倍加を生ずることなく現存種へと分化した可能性も示唆される。

#### 4. 林木育種での核型の利用と今後の課題

これまで、林木育種に関する事業の中で、核型が積極的に利用されたことは少なく、林木育種の基礎としてのみ考えられてきた。このことは、核型に関する研究の手法そのものが、直接的に林木育種の現場で利用できないことが主たる要因であり、今後もこのことが変わることはないものと考えられる。しかしながら、本研究で明らかにすることができたNORと核小体の最大個数の関係、すなわち核小体の最大個数の観察からNORとして機能している狭窄（仁狭窄）の数が推定できることは、従来行われてきた核型分析と異なり、極めて容易に、しかも比較的短時間で結果が得られる利点をもっている。したがって、この核小体の最大個数から仁狭窄の数を推定することの具体的な利用方法、当面の利用方法としては、スギさし木品種内の系統分けの目安として、あるいはモデル的に採取園の設計に際しての花粉飛散の調査などが考えられる。1つの例として、スギでは第6染色体の二次狭窄の有無により0型、I型、II型の染色体構成があることが知られており<sup>127,149,158)</sup>、さらに染郷ら<sup>127)</sup>に基づけば「I型×I型」の交配ではF<sub>1</sub>に0型、I型、II型が1:2:1に分離することがわかっている。従来、このような交配実験ではF<sub>1</sub>の核型の確認は染色体の観察が必要とされていた。しかし、本研究で得られた核小体とNORとして機能している一次狭窄以外の狭窄の関係から、今後は染色体の観察なしに、核小体の最大個数の確認のみで交配結果の確認が可能といえる。すなわち、0型、I型、II型の核小体の最大個数はそれぞれ2、3、4個であるから任意のF<sub>1</sub>を幾つか選び出し、それらの核小体の最大個数の観察結果を、期待値と比較することにより、交配が正しく行われたかどうかを簡単に判断できるといえる。同様に、核小体の最大個数の確認からの核型の推定は、採種園などでの花粉の飛散に関する実験でも利用が可能と考えられる。すなわち、採種園外からの花粉の飛散がないと仮定すれば、0型集団内にII型を、あるいはこれとは逆にII型集団内に0型を植栽しておく、「0型×II型」のF<sub>1</sub>は100% I型であろうことが期待されるから、F<sub>1</sub>の核小体の最大個数が3個のものが出現すれば「0型×II型」の交配が行われたと解釈でき、F<sub>1</sub>でのI型個体の出現状況を核小体の個数から解析することによって、実際の花粉の飛散状態を明らかにすることができるものと考えられる。

また、近年、林学でも積極的に導入、利用されはじめているバイオテクノロジーでのスギ科の細胞融合、半数体の育成などでは、本研究で明らかにされた中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体がマーカー染色体として利用可能である。すなわち、属間の細胞融合ではスギ属、ラクウショウ属、スイショウ属の3属間の細胞融合では中間付随体染色体の形態がほぼ同じであり、この3属相互間のみでは簡単に判断することはできないが、それ以外の組合せでは明らかにマーカー染色体が異なっている。このことから、染色体構成のすべてを検討することなしにマーカー染色体の形態のみの確認で、属間の識別が可能といえる。また同時に、これらの染色体をマーカーとすることによって、科の間の違いも明らかにできることから、科の間での細胞融合の判定にも十分利用可能と思われる。半数体の育成では、倍数体の核小体の最大個数がすでにわかっているから、半数体ではその核小体の最大個数が半分となっているので、染色体数の確認を行うことなく、核小体の最大個数の確認で半数体との判断が下せることになる。

核型分析の手法は、新しいものではなく、現在林木以外の動植物では染色体の種々の分染方法の確立により、単なる核型分析ではなく、従来とは異なった新しい染色体に関する研究が行われている。その中で従来からの手法での核型分析を行うことに疑問の余地があるものと考えられる。しかし、著者をはじめ多くの林木の染色体に関する研究者が種々の分染を試みているが、スギ科をはじめほとんどすべての球果植物について、現在までのところ染色体の長軸方向の構造の違いを十分に分染できる方法が見い出されていないのが実情である。したがって、今後は染色体の長軸方向の分染方法を確立し、染色体からの種内変異の解析、表現型と結びついた遺伝型の解析等が行われる必要性が痛感される。染色体の長軸方向の分染が行われると、染色体の転座、欠失、挿入等の構造変化を具体的に明らかにすることが可能となる。また、それにともない、これまで林木ではほとんど行われていない遺伝子解析と連鎖群の解明、連鎖地図の作製と結びつけた染色体地図の作製にまで研究の進展が可能となると思う。

本研究ではスギ科を供試樹種として、従来からの核型分析の手法に、これまで林木では利用されることがなかった新しい手法である染色体の分染法の1つ、Ag-I法を用いたNORと核小体の分染、相対的DNA量の測定を結びつけた研究を試みた。また、本研究の研究材料であるスギ科の多くはそれぞれの国で主要な造林樹種であるが、現生する個々の樹種がそれぞれ固有種であり、しかも属単位に独立していることなどから、これまでスギ科として体系的に研究されることがなかった。本研究の成果が、今後のスギ科の林木育種にすこしでも役に立つことができれば誠に幸いである。また、林木の遺伝育種に関する研究は、その研究対象である樹木の生育年数が極めて長いこともあり、決して他の分野よりも進んでいるとはいえない。しかし、積極的に新しい考え方、新しい技術を取り入れることにより、将来に向けてさらに林木育種技術の向上、手法の開発に取り組んでいきたいものである。

## 摘 要

本研究は、わが国林業にとって極めて重要な樹種であるスギが含まれているスギ科樹木の林木育種に関する基礎的研究として核型分析、核小体形成部と核小体の分染、相対的DNA量の測定から種の識別、種の類縁等を明らかにして、今後の林木育種に関する有用な指針を得ようとしたものである。

本論文の研究結果の概要は、次の通りである。

### I. 核型分析

- (1) スギ科の染色体数は、樹種によって $2n=20$  ( $x=10$ )、 $2n=22$  ( $x=11$ )、 $2n=66$  ( $x=11$ ) の3つに分けられた。 $2n=20$ はコウヤマキであり、 $2n=66$ はセコイアメスギ、残りの樹種はすべて $2n=22$ であった。
- (2) スギ科の染色体数構成の特徴としては、中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体のいずれかを最低1対有することにあつた。メタセコイアは中間付随体染色体を3対有しており、このことはこれまで報告されたことのない新知見であつた。スギは中間付随体染色体1対と二次狭窄染色体の両方を合わせもっていた。コウヤマキは二次狭窄染色体を1対有しており、中間付随体染色体および付随体染色体は有していなかった。セコイアメスギ、コウヨウザン、ランダイスギは付随体染色体を1対有していた。残りのスギ科はすべて中間付随体染色体を1対有していた。
- (3) コウヤマキは染色体数が $2n=20$  ( $x=10$ ) と異なっており、中間付随体あるいは付随体染色体のいずれも有せず、二次狭窄染色体を有することから、スギ科の中では特異な樹種と考えられた。したがって、核型からみるとコウヤマキはスギ科から独立させコウヤマキ科と分類すべきことが支持された。
- (4) コウヤマキを除くスギ科の樹種は、すべて中間付随体染色体か付随体染色体のいずれか一方を最低1対有していた。また、両タイプの染色体を合わせもつ樹種はなかった。また、この中間付随体染色体と付随体染色体の両タイプの染色体は形の上からみると、染色体の逆位によって生じたこと

が考えられた。

- (5) 染色体数、中間付随体染色体、付随体染色体、二次狭窄染色体の有無、染色体構成の長さのばらつきなど核型からみて、スギ科は6グループと4つのサブグループに分けられた。
- (6) スギ科の核型の特徴を明らかにするため供試したイチイ科のイチイ、カヤ、ナンヨウスギ科のブラジルアロウカリア、ヒノキ科のヒノキの染色体数は、それぞれ $2n=24$ 、 $22$ 、 $26$ 、 $22$ であることがわかった。また、イチイとブラジルアロウカリアは中間付随体染色体を、カヤとヒノキは二次狭窄染色体を有していた。

## II. 核小体形成部と核小体の分染

- (1) これまで、スギ科を含めた球果植物で用いられることが少なかった染色体分染法の1つである **Ag-I** (硝酸銀-incubation) 法の改良に努めた。その結果、核小体形成部を効率良く、しかも確実に分染する改良法として、引火法を応用した新たなカバーガラスの剥離法とフォイルゲン染色と **Ag-I** 法の二重染色法を開発した。また、球果植物での核小体形成部の分染は、これまでに成功例がなく、新しい試みであった。
- (2) 核小体形成部の位置は、核型分析の結果得られた中間付随体と付随体の狭窄および染色体腕上の二次狭窄であることが明らかにできた。また、核型分析で確認されたそれらの狭窄のすべてが核小体形成部として機能していることがわかった。
- (3) 核小体の最大個数は、常に核小体形成部の数に一致しており、核小体と核小体形成部は1対1の対応関係にあることが明らかになった。
- (4) 核小体と核小体形成部が1対1の対応で、しかも核小体形成部の機能的な抑制が生じていないことから、細胞分裂中期の染色体の観察なしに、間期核での核小体の最大個数から核小体形成部すなわち染色体の一次狭窄以外の狭窄の数が推定できることがわかった。このことは、従来からの染色体の観察による核型の認識ではなく、間期核の観察を利用した新しい核型の認識方法の1つと考えられた。

## III. 相対的DNA量について

- (1) 細胞あたりのDNA量は、6倍体のセコイアメスギが最も多く、次いでコウヤマキの順であった。
- (2) 細胞あたりのDNA量をゲノムあたりのDNA量に換算すると、コウヤマキが最も多かった。また、DNA量からみるとスギ科は4グループに分けて考えることができ、コウヤマキはDNA量からみてもスギ科とは有意に異なっていることが明らかになった。

IV. 以上のような研究結果をもとに、核型を中心に核小体の最大個数、DNA量からみた種の識別、類縁について考察し、スギ科の林木育種に関する核型の利用と今後の課題について論議をくわえた。

## 引用文献

1. 天野良之. 1943. イチイの性と染色体 遺伝学雑誌, 19:102-103
2. 馬場繁幸. 1983a. スギ科樹木の染色体について 日林九支研論集, 36:91-92
3. ————. 1983b. *Sequoiadendron giganteum*の染色体に関する研究 琉大農学報, 30:615-621
4. ————, 山盛直. 1984. スギ科樹木の染色体に関する研究(II) NOR染色について 日林九支研論集, 37:47-48
5. Baetcke, K. P., Sparrow, A. H., Nauman, C. H. and Schwemmer, S. S. 1967. The relationship DNA content to nuclear and chromosome volumes and to radiosensitivity ( $LD_{50}$ ) Proc. N. A. S., 58:533-540
6. Bloom, S. E. and Goodpasture, C., 1976, An improved technique for selective silver staining of nucleolar organizer regions in human chromosomes. Hum. Genet., 34:199-206

7. Borzan, Z. and Papes, D. 1978. Karyotype analysis in *Pinus*. A contribution to the standarization of the karyotype analysis and review of some applied technique. *Silvae Genet.*, 27:144-150
8. Buchholz, J. T. 1939a. The morphology and embryogeny of *Sequoia gigantea*. *Amer. J. Bot.*, 29:93-101
9. ————. 1939b. The embryogeny of *Sequoia sempervirens* with a comparison of the Sequoias. *Amer. J. Bot.*, 29:248-257
10. ————. 1939c. The generic segregation of the Sequoias. *Amer. J. Bot.*, 29:535-538
11. Cardemil, L., Salas, E. and Godoy, M. 1984. Comparative study of the karyotypes of South American species of *Araucaria*. *J. Hered.*, 75:196-202
12. Casperson, T.B., Farber, S., Faley, G. E., Modest, E. J., Simmonson, E., Wagh, U. and Zech, L. 1968. Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp. cell res.*, 49:219-222
13. Chiba, S. 1951. Triploids and tetraploids of Sugi(*Cryptomeria japonica* D. Don) selected in the forest nursery. *Bull. Gov. For. Exp. Sta.*, 49:99-109
14. Coker, W. C. 1903a. On the gametophytes and embryo of *Taxodium*. *Bot. Gaz.*, 36:1-27
15. ————. 1903b. On the gametophytes and embryo of *Taxodium*. *Bot. Gaz.*, 36:114-140
16. Dark, S. O. S. 1932. Chromosomes of *Taxus*, *Sequoia*, *Cryptomeria* and *Thuja*. *Ann. Bot.*, 46:965-977
17. Dhillon, S. S., Berlyn, G. P. and Miksche, J. P. 1977. Requirement of an internal standard for microspectrophotometric measurements of DNA. *Amer. J. Bot.*, 63:117-121
18. DuProw, E. J. (田中信徳、黒岩常祥、渡部真共訳). 1977. DNAと染色体 346pp. 丸善、東京
19. Florin, R. 1963. The distribution of conifer and taxad genera in time and space. *Acta Horti Bergiani.*, 20:121-312
20. Fozdar, B. S. and Libby, W. J. 1968. Chromosomes of *Sequoia sempervirens*: 8-hydroxyquinoline-castor oil pretreatment for improving preparation. *Stain Technol.*, 43:97-100
21. Funaki, K., Matsui, S. and Sasaki, M. 1975. Location of nucleolar organizers in animal and plant chromosomes by means of an improved N-banding technique. *Chromosoma (Berl.)*, 49:357-370
22. 古越隆信. 1983a. 中国の柳杉 天然しほの研究、4:19-25
23. ————. 1983b. 中国の林木育種点描 山林、1189:26-33
24. Goodpasture, C. and Bloom, S. E. 1975. Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma (Berl.)*, 53:37-50
25. Goodspeed, T. H. and Crane, M. P. 1920. Chromosome number in the Sequoias. *Bot. Gaz.*, 69:348-349
26. Gulline, H. F. 1952. The cytology of *Athrotaxis*. *Pap. & Proc. Roy. Soc. Tasmania*, 86:131-136
27. Haga, T. and Kurabayashi, M. 1953. Genom and polyploidy in the genus *Trillium*. IV. Genom analysis by means of differential reaction of chromosome segments to low temperature. *Cytologia*, 18:13-28
28. Han, Y. F., Tang, Y. C. and Yang, Z. X. 1980. Preliminary study of *Cunninghamia lanceolata* karyotype. *Sci. Silvae Sin.*, 16:37-41 (Chinese with English abstract)
29. ————、—————、 and ————. 1984. Studies on the karyotype of geographical provenance of *Cunninghamia lanceolata*. *Sci. Silvae Sin.*, 20:113-121 (Chinese with English

abstract)

30. Harlow, W. M., Harrar, E. S. and White, F. M. 1978. Textbook of dendrology. Sixth-ed. 510pp. McGraw-hill, New York
31. 初島住彦. 1976. 日本の樹木 879pp. 講談社、東京
32. 林 弥栄. 1951. 日本産重要樹種の天然分布 針葉樹第1報 林試研報、48:1-240
33. ————. 1952. 日本産重要樹種の天然分布 針葉樹第2報 林試研報、55:1-251
34. ————. 1969. 有用樹木図説(林木編) 472pp. 誠文堂新光社、東京
35. 早田文蔵. 1931. かうやまきハ独立スルかうやまき科ノ代表者デアル Bot. Mag. Tokyo, 45:567-569
36. ————. 1933. 植物分類学 第1巻(裸子植物篇) 886pp. 内田老鶴圃、東京
37. Heneen, W. K. 1962. Karyotype studies in *Agropyron junceum*, *A. repens* and their spontaneous hybrids. Hereditas, 48:471-502
38. Hewes, J. J. 1981. Red woods. 192pp. Bison Books, London
39. 平吉 功. 1942. 林木班報告2 生研時報、1:88-90
40. ————、中村有一. 1943. *Sequoia sempervirens*の染色体数 植物及動物、11:73-75
41. ————、—————. 1944. 森林植物の細胞学的並に遺伝学的研究 I. 二三球果植物の染色体数 農学部講演集(京都帝大)、第2輯:90-98
42. 日浦 勇. 1972. 分布要素と編年 生物科学、24:11-20
43. 日詰雅博、田中隆荘. 1979. 裸子植物の染色体 遺伝、33(6):31-37
44. Hizume, M., Sato, S. and Tanaka, A. 1980a. A highly reproducible method of nucleolus organizing regions staining in plants. Stain Technol., 55:87-90
45. ————, Tanaka, A. and Miyata, Y. 1982. Behavior of silver stainable material during mitosis in *Vicia fava*. Bot. Mag. Tokyo, 95:81-87
46. ————, Ohgiku, A. and Tanaka, A. 1983. Chromosome banding in the genus *Pinus*. I. Identification of chromosomes in *P. nigra* by fluorescent banding method. Bot. Mag. Tokyo, 96:273-276
47. 堀田 満. 1974. 植物の分化と分布 400pp. 三省堂、東京
48. Howell, W. M. 1977. Visualization of ribosomal gene activity silver stains protein associated with rRNA transcribed from oocyte chromosomes. Chromosoma (Berl.), 62:361-367
49. ————, Danton, T. E. and Diamond, J. R. 1975. Differential staining of satellite regions of human acrocentric chromosomes. Experientia, 31:260-262
50. Hsu, T. C., Brinkley, B. R. and Arrighi, F. E. 1967. The structure and behavior in nucleolus organizers in mammalian cells. Chromosoma (Berl.), 23:137-153
51. International Study Group. 1960. A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. Acta genet., 10:322-328
52. 石田政弘. 1977. 核酸とその機能 核酸と生合成産物(植物遺伝学II 木原 均 監修) 1-43. 裳華房、東京
53. Ishikawa, M. 1916. A list of the number of chromosomes. Bot. Mag. Tokyo, 30:404-448
54. 石崎厚美. 1965. 九州地方におけるスギさしき品種の形態、生理、造林上の特性 林試研報、180:1-303
55. 伊藤信治、染郷正孝. 1982. スギ精英樹にみられる自然3倍体 34回日林関東支論:101-102
56. Jensen, H. and Levan, A. 1941. Colchicine-induced tetraploidy in *Sequoia gigantea*. Hereditas, 27:220-224

57. 陣内 巖、千葉 茂. 1951. 自然に現れたスギの四倍体 育種学雑誌、1:43-46
58. ————. 1947. コルヒチン処理により育成した二、三針葉樹の倍数体 東大演報、35:15-25
59. Kalm, L. and Smyth, D. R. 1980. Silver staining test of nucleolar suppression in the *Lilium* hybrid 'Black Beauty'. *Exp. cell res.*, 129:481-485
60. 金沢林助. 1949. 木本植物の染色体数 I、裸子植物 II、単子葉植物 染色体、5-6:249-260
61. Khoshoo, T. N. 1961. Chromosome numbers in Gymnosperms. *Silvae Gent.*, 10:1-9
62. 木原 均、山本幸雄、細野重雄. 1931. 植物染色体の研究 352pp. 養賢堂、東京
63. ———— 監修. 1980 細胞分裂と細胞遺伝 647pp. 裳華房、東京
64. 菊地秀夫、森 節子. 1984. 柳杉における自然倍数体苗の検出 95回日林論:331-332
65. 北村四郎、村田 源. 1982. 原色日本植物図鑑 木本編 II 545pp. 保育社、大阪
66. Kondo, T. and Hizume, M. 1982. Banding for the chromosomes of *Cryptomeria japonica* D. Don. *J. Jap. For. Soc.*, 64:356-358
67. Kupila-Ahvenniemi, S. and Hohtla, A. 1977. Structure of the chromosomes of Scotch pine. *Hereditas*, 87:185-188
68. Kurabayashi, M. 1958. Evolution and variation in Japanese species of *Trillium*. *Evolution*, 14:232-237
69. 倉田のり、大村 武、片山 平. 1978a. 栽培稻における体細胞核型分析 日本育種学会53回講演要旨:174-175
70. Kurata, N. and Omura, T. 1978b. Karyotype analysis in rice. I. A new method for indentifying all chromosome pairs. *Jap. J. Genet.*, 53:251-255
71. 黒木嘉久、外山三郎. 1969. 林木の核型に関する研究 (V) メタセコイアの核型について 日林九支講、23:146-148
72. ————. 1969. 主要針葉樹の核型に関する研究 宮大演報、5:1-103
73. ————. 1970. 林木の核型に関する研究 (VI) ギガントセコイアの核型およびギガントセコイアとメタセコイアの核型の比較 日林九支講、24:77-79
74. Lawson, A. A. 1904a. The gametophytes, archegonia, fertilization and embryo of *Sequoia sempervirens*. *Ann. Bot.*, 18:1-28
75. ————. 1904b. The gametophytes, fertilization and embryo of *Cryptomeria japonica*. *Ann. Bot.*, 18:417-444
76. ————. 1910. The gametophytes and embryo of *Sciadopitys verticillata*. *Ann. Bot.*, 24:403-421
77. Levan, A. L., Fredge, K. and Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52:201-220
78. 劉 業経. 1980. 台湾重要樹木彩色図鑑 592pp. 中華彩色印刷股份有限公司、台湾
79. 劉 棠端、廖 日京. 1982. 樹木学 (上冊) 586pp. 台湾商務印書館、台湾
80. 呂 錦明. 1979. コウヨウザンの萌芽更新に関する研究 九州大学博士論文 349pp.
81. MacPherson, P. and Filion, W. G. 1981. Karyotype analysis and the distribution of constitutive heterochromatin in five species of *Pinus*. *J. Hered.*, 72:193-198
82. 松田 清、宮島 寛. 1977. スギさし木品種の染色体数 59回日林論:148-150
83. ————、———. 1978. 三倍体ヒノデスギ子供群の染色体数 日林九支研論集、31:93-94
84. Matsui, S and Sasaki, M. 1973. Differential staining of nucleolus organisers in mammalian chromosomes. *Nature*, 246:148-150
85. ————. 1974. Nucleolus organizer of *Vicia fava* chromosomes revealed by the N banding

- technique. Jap. J. Genet., 49:93-96
86. 松本賢三. 1933. スギ及び台湾スギの染色体数に就て 植物及動物、1:1751-1766
  87. Mehra, P. N. and Khoshoo, T. N. 1956. Cytology of conifers. I. Jour. Genet., 54:165-180
  88. ————. 1968. Cytogenetical evolution of conifers. Ind. Jour. Genet. Plant breed., 28:97-111
  89. 三木 茂. 1953. メタセコイア (生ける化石植物) 141pp. 日本鉱物趣味の会、京都
  90. 宮島 寛 (研究代表者). 1979. スギさし木地帯の再選抜対象集団の特性に関する研究 185pp. 九大農学部造林研究室 (文部省科学研究費研究報告)
  91. 森 節子、岡田幸郎、古田嘉彦. 1980. 立山スギ小原5号の細胞学的研究 91回日林論:219-220
  92. ————、———、———. 1981. スギにおけるギムザ分染法について 92回日林論:261-262
  93. 諸見里秀幸. 1975. マツ属の二葉松類および三葉松類の核学的研究 琉大農学報、22:591-678
  94. 永野為武. 1979. 生物学用語辞典 573pp. 三省堂、東京
  95. Nakajima, G. 1942. Cytogenetical studies in some flowering dioecious plants, with special reference to the sex chromosomes. Cytologia, 12:262-270
  96. 西山市蔵. 1965. 細胞遺伝学研究法 547pp. 養賢堂、東京
  97. Norstog, K. 1965. Induction of apogamy in megagametophytes of *Zamia intergrifolia*. Amer. J. Bot., 52:993-999
  98. 大井次三郎. 1975. 日本植物誌 顕花篇 1,582pp. 至文堂、東京
  99. Price, H. J., Sparrow, A. H. and Nauman, F. 1974. Evolutionary and developmental considerations of the variability of nuclear parameters in higher plants. I. Genome volume, interphase chromosome volume and estimated DNA content of 236 Gymnosperms. Brookhaven symp. biol., 25:390-421
  100. 佐々木義則. 1976. 針葉樹の核型に関する研究 大分県林試研報、7:1-103
  101. ————、黒木嘉久. 1979. 有用樹種の細胞遺伝学的研究 (II) クモトオシスギの核型について 日林九支研論集、32:153-154
  102. ————、———. 1981. 有用樹種の細胞遺伝学的研究 (V) ヒノデスギおよびウラセバルスギの核型 日林九支研論集、34:101-102
  103. ————、川野洋一郎. 1982. 有用樹種の細胞遺伝学的研究 (IV) スギおよびヒノキの自然四倍体 大分林試研究時報、5:1-4
  104. ————. 1982e. 有用樹種の細胞遺伝学的研究 (VII) スギおよびヒノキの精英樹にみられる三倍体 大分林試研究時報、5:5-13
  105. ————、———. 1983a. 有用樹種の細胞遺伝学的研究 (VIII) 低稔性を示すスギおよびヒノキ精英樹の細胞学的研究 日林九支研論集、36:93-94
  106. ————、———. 1983b. スギ・ヒノキの核型に関する研究25 スギ人工林造林地にみられる自然三倍体 大分林試年報、25:42
  107. ————、———. 1983c. スギ・ヒノキの核型に関する研究26 スギ精英樹・佐伯1号×ヒノデスギのF<sub>1</sub>の染色体数 大分林試年報、25:43
  108. ————. 1983d. 有用樹種の細胞遺伝学的研究 (IX) 低稔性等を示すスギおよびヒノキ精英樹の細胞学的研究 大分林試研究時報、6:1-20
  109. 佐竹義輔、山崎 敬. 1981. 裸子植物 (現代植物学体系 7b 高等植物 B) 100-140. 中山書店、東京
  110. 佐藤敬二. 1930. スギ染色体数に就て 林学会誌、12(7):18-21
  111. Sax, K. and Sax, H. J. 1933. Chromosome number and morphology in the conifers. Jour.



- Arnold Arb., 14:356-375
112. Saylor, L. C. 1970. Karyology of *Sequoia sempervirens*: Karyotype and accessory chromosomes. *Cytologia*, 35:294-303
  113. Schlarbaum, S. E. and Tsuchiya, T. 1975a. The chromosome study of Giant Sequoia, *Sequoiadendron giganteum*. *Silvae Genet.*, 24:23-26
  114. ——— and ———. 1975b. Chromosomes of incense cedar. *J. Hered.*, 66:41-42
  115. ——— and ———. 1976. Chromosome study of Japanese umbrella pine. *J. Hered.*, 67:65-67
  116. ——— and ———. 1981. Differential reactivity to staining in tree chromosomes. *J. Hered.*, 72:62-63
  117. Schubert, I., A. -Kristeva, M. and Rieger, R. 1979. Specificity of NOR staining in *Vicia fava*. *Exp. cell res.*, 120:433-435
  118. Seabright, M. 1972. The use of proteolytic enzymes for the mapping of structure rearrangements in the chromosomes of man. *Chromosoma (Berl.)*, 36:204-210
  119. Sharma, A. K. and Sharma, A. 1980. Chromosome techniques - Theory and practice. 711pp. Butterworths. London
  120. 四手井綱英、諸見里秀幸. 1965. アカマツおよびクロマツの核型分析 日林誌、47:271-274
  121. 下斗米直昌、竹本貞一郎. 1936. 菊属6種ノ染色体ノ形態ニツイテ 植雑、50:324-331
  122. 篠遠喜人. 1944. 核型の表し方 科学、14(2):76-78
  123. 柴田寛一、尾越 豊、中田銀佐久. 1956. 松柏類植物の細胞学的研究 I ヒノキ・スギ・マツ属数種の染色体数 染色体、29:1025-1028
  124. Simak, M. and Happel, C. 1966. Vorbehandlung der Koniferensamen für Chromosomenuntersuchungen. *Silvae Genet.*, 15:38-41
  125. 染郷正孝. 1980. スギの核型の変異 91回日林論:213-214
  126. ———、菊地秀夫、佐々木義則. 1982. スギ精英樹西川2号の細胞学特性 34回日林関東支論:93-94
  127. ———、———、———. 1983a. スギ精英樹佐賀3号の自殖にみられる第6染色体の行動 94回日林論:237-238
  128. ———、———. 1983b. 中国産スギ柳杉 (*Cryptomeria fortunei*) の核型 94回日林論:239-240
  129. Stebbins, G. L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. 216pp. Edward Arnold, London
  130. Stebbins, G. L. Jr. 1948. The chromosomes and relationships of *Metasequoia* and *Sequoia*. *Science*, 108:95-98
  131. Sugihara, Y. 1941. The embryology of *Cunninghamia lanceolata* Hooker. *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. Ser. IV*, 16:187-192
  132. 杉本順一. 1983. 新日本樹木総検索誌 577pp. 井上書店、東京
  133. Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exptl. cell res.*, 75:304-306
  134. Suzuki, M. 1979. The course of resin canals in the shoots of conifers III. Pinaceae and summary analysis. *Bot. Mag. Tokyo*, 92:333-353
  135. Tahara, M. 1937. Contributions to the morphology of *Sciadopitys verticillata*. *Cytologia Fujii jub. vol.*:14-19

136. ————. 1940a. The gametophytes, fertilization and proembryo of *Sciadopitys verticillata*. Sci. Rep., Tohoku Imp. Univ., Ser. IV, 15:19-29
137. ————. 1940b. The embryogeny of *Torreya nucifera* S. et Z. Sci. Rep., Tohoku Imp. Univ., Ser. IV, 15:419-429
138. ————. 1942. Further studies on the embryogeny of *Torreya*. Sci. Rep., Tohoku Imp. Univ., Ser. IV, 17:9-179
139. 田中隆莊. 1976. 植物進化と染色体 遺伝, 30(8):7-11
140. ————. 1977. 新核型論 植物細胞学 (続細胞学体系 3 小川和朗他編) 293-326. 朝倉書店、東京
141. ————. and Hizume, M. 1980. C banding treatment for the chromosomes of some gymnosperms. Bot. Mag. Tokyo, 93:167-170
142. ————. 1982. 核型の進化 生態遺伝と進化 (植物遺伝学 V 木原 均監修) 462-493. 裳華房、東京
143. Teoh, S. B. and Rees, H. 1976. Nuclear DNA amounts in populations of *Picea* and *Pinus* species. Heredity, 36:123-137
144. Tjio, J. H. and Levan, A. 1950. The use of oxyquinoline in chromosome analysis. Ann. estac. exp. Aula Dei, 2:21-64
145. 戸田義宏. 1977. 三倍性スギの核学的研究 (予報) 染色体、II-6:186-190
146. ————. 1979a. スギの核型について (I) 日林九支研論集, 32:151-152
147. ————. 1979b. On the karyotype of *Cryptomeria japonica* D. Don (II). Bull. Facul. Hort. Minamikyusyu Univ., 9:1-10
148. ————. 1979c. スギの核型について (IV) 染色体、II-14:404-407
149. ————. 1980a. スギの核型について (VI) 日林九支研論集, 33:181-182
150. ————. 1980b. On the karyotype of *Cryptomeria japonica* D. Don (V) *Cryptomeria japonica* D. Don in Kyusyu (1). J. Jap. For. Soc., 62:264-269
151. ————. 1980c. スギの核型について (VII) 日林九支研論集, 33:183-184
152. ————. 1980d. スギの核型について (X) 九州地方のスギ (3) 91回日林論:215-216
153. ————. 1980e. スギの核型について (XI) スギの変異体 (3) 91回日林論:217-218
154. ————. 1980f. スギの染色体 遺伝, 34(6):11-16
155. ————. 1981a. スギの核型 (IX) スギの減数分裂 染色体、II-21-22:611-614
156. ————. 1981b. On the karyotype of *Cryptomeria japonica* D. Don (X III) *Cryptomeria japonica* D. Don in Kyusyu 4. La Kromosome, II-24:707-712
157. ————. 1981c. スギの核型について (X IV) 低温処理による染色体の観察 92回日林論:263-264
158. ————. 1982. スギの核型について (X V) 九州地方のスギ (5) 93回日林論:213-214
159. ————. 1983a. スギの核型について (X VI) ヒノデおよびヒノデと福岡署 2 との F<sub>1</sub> 個体 日林九支研論集, 36:87-88
160. ————, 藤本吉幸. 1983b. スギ科の細胞遺伝学的研究 (I) 中国産 (浙江省) スギの核型について 日林九支研論集, 36:89-90
161. ————, ————. 1983c. スギ科の細胞遺伝学的研究 (II) 中国柳杉 (安徽省産) の核型について 94回日林論:241-242
162. 遠山富太郎. 1976. 杉のきた道 215pp. 中央公論、東京
163. 上原敬二. 1959. 樹木大図説 1 1,300pp. 有明書房、東京

164. 植村和彦. 1981. スギの祖先とその分布変遷 遺伝、35(4):74-79
165. Wochok, Z. S. 1980. Giemsa banding in chromosomes of Douglas fir seedlings and plantlets. *Ann. Bot.*, 46:249-254
166. 屋我嗣良. 1978. 沖縄産材の抗蟻性について 琉大農学報、25:555-613
167. 鄭 万鈞他中国樹木誌編輯委員会編. 1983、中国樹木誌 第1巻 929pp. 新華書店、北京