

南アルプスに分布するヒノキ天然林の アイソザイム変異*

井出雄二**・勝木俊雄***

Isozyme Variation in Natural Populations of *Chamaecyparis obtusa* Distributed around the South Japan Alps

Yuji IDE** and Toshio KATSUKI***

はじめに

筆者らは、遺伝子資源の保存とその育種的利用を目的に、これまで南アルプス地域のヒノキ天然林からのクローン収集を行ってきた²⁾。収集したクローンを育種材料として利用していく上において、その遺伝的特徴を十分把握する必要がある。しかし、これらのクローンについては、これまでにさし木の発根特性などごく限られた情報しか得られていないのが現状である³⁻⁵⁾。

近年、多くの樹種でアイソザイム遺伝子の分析手法が確立され、集団や個体の遺伝的特徴を明らかにすることが可能となっている。ヒノキについても、遺伝子座の捕捉^{13, 14, 17-19)}、繁殖様式の推定^{10, 11)}、クローンの同定^{6, 9, 10, 16)}、天然林の遺伝的変異^{11, 12, 15, 19)}等に関して報告がなされている。

アイソザイム遺伝子の変異は、直接有用形質の遺伝子の有無などの情報につながるものではないが、集団の遺伝的な分化の様子や遺伝子の多様性を知るための情報としての有効性が高い。SHIRAISHIらは、パーオキシターゼ(POD)およびアスパラギン酸アミノ転移酵素(GOT)の変異を全国規模で調査し、天然性ヒノキの分化の様子や地理的クラインの存在について言及した¹⁵⁾。しかし、多数の酵素種を用いたアイソザイム分析によって、天然林の遺伝的変異を明らかにした例は少なく^{12, 19)}、ヒノキ天然林の遺伝的変異に関する情報の集積が課題となっている。

そこで、筆者らがこれまで育種素材の収集の対象としてきた南アルプス地域のヒノキ天然林について、まず、アイソザイム分析を行う必要があると考えた。それによって、それぞれの集団の遺伝的特徴を明らかにし、これらの集団がわが国の天然性ヒノキの中でしめる位置を明確にしておくことが、既に収集した材料の有効な利用のみならず、同地域の他の集団を今後遺伝子資源として利用してゆく上で重要と考える。

本研究では、南アルプスの静岡県側、大井川流域および天竜川流域に分布する4カ所のヒノキ天然林を対象として、6酵素種の7遺伝子座についてアイソザイム分析を行い、それぞれの遺

* 本報告の一部は、第103回日本林学会大会で口頭発表した。

** 東京大学農学部附属演習林研究部

Research Division of The University Forests, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo.

*** 森林総研多摩森林学園

Tama Forest Science Garden, Forest and Forest Products Research Institute.

伝子座における遺伝子頻度について、集団遺伝学的な検討を加えた。

なお、報告に当たり調査地の踏査、材料採取等にご協力いただいた、東海パルプ株式会社および水窪宮林署、静岡県林業技術センターの職員の皆様に厚くお礼申し上げる。

調 査 地

調査地として、南アルプスの静岡県側に位置する天然ヒノキの4集団を選定した。このうち2集団 (I, II) は大井川源流域に位置し、2集団 (III, IV) は天竜川支流水窪川の源流域に位置する (図-1, 表-1)。調査集団の概況は以下のとおりである。

集団Iは、聖岳(3011 m)東斜面の標高2,011 mの小ピーク(乗越)上に位置する小集団である。生育するヒノキの平均胸高直径は約23 cm、樹高は約9 mであった。この集団には、明らかに人為によると思われる伐痕は見られなかったため、現在まで天然更新状態で維持されているものと考えられた。分析材料の採取は、集団内のほぼすべての個体についておこなった。なお、この集団により下方には、約40年前に伐採後天然更新した若齢のヒノキ林が、標高1,600 m付近まで断続的に続いている²⁾。なお、この若齢林の一部からは、筆者らによってクロウンの収集が行われており²⁾、また、UCHIDAらによりアイソザイム分析が既に行われている¹⁹⁾。

集団IIは、大井川本流と赤石沢とに囲まれた、鳥森山(1,570 m)北側の斜面、標高1,500 m付近に成立した集団である。集団内のヒノキの平均直径は約15 cm、樹高は約10 mであった。ヒノキは比較的広範囲かつ高密度で生育している。樹齢は、90~100年程と推定される。南アルプスの森林伐採拠点の一つであった樺島に隣接することから、過去に伐採された経緯があるものと考えられ、前生樹と思われる胸高直径78 cmという個体が1本残存している。

集団IIIは、水窪川の支流である戸中川西俣沢に面した黒沢山(2,122 m)南面の標高1,700 mの尾根上に成立する、樹齢200~300年ほどの上層木とその後継樹からなる。後継樹は、胸高直径約15 cm、樹高約5 m程度で比較的多数生育している。上層木は過去に何度か伐採され、現在も残存する個体の伐採が引き続き行われている。分析用サンプルは伐採中の上層木の先端付近から採取した。上層木の直径は70~80 cm程度で、樹高は12 m前後であった。林内には胸高直径約15 cm、樹高5 m程度の後継樹が比較的多数生育している。

集団IVは、集団IIIと同じ戸中川の支流東俣沢に面し、黒法師山(2,067 m)の北西尾根上、標高1,000 mに位置する。本集団は個体数が少なく、胸高直径30 cm以上の小数の大径木と、その後継樹と考えられる下層木および稚樹からなっており、集団のほとんどすべての個体を採取した。また、過去の伐採の有無は不明であるが、周辺ではヒノキの伐痕が確認され、伐採の記録もあることから、調査地は、過去広範囲に成立していたヒノキ林が部分的に遺存した集団である可能性がある。

材 料 と 方 法

大井川流域の集団については1989年10月に、天竜川流域の集団については1990年10月に、それぞれ分析用の枝葉を採取した。分析には当年生の枝葉を用いた。採取した枝葉は、現地ですチックバックに密封し、ドライアイスで冷却しながら運搬し、分析開始まで-80℃の超低温庫で保存した。

アイソザイム分析は、平板ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法により行った。試料の調整、

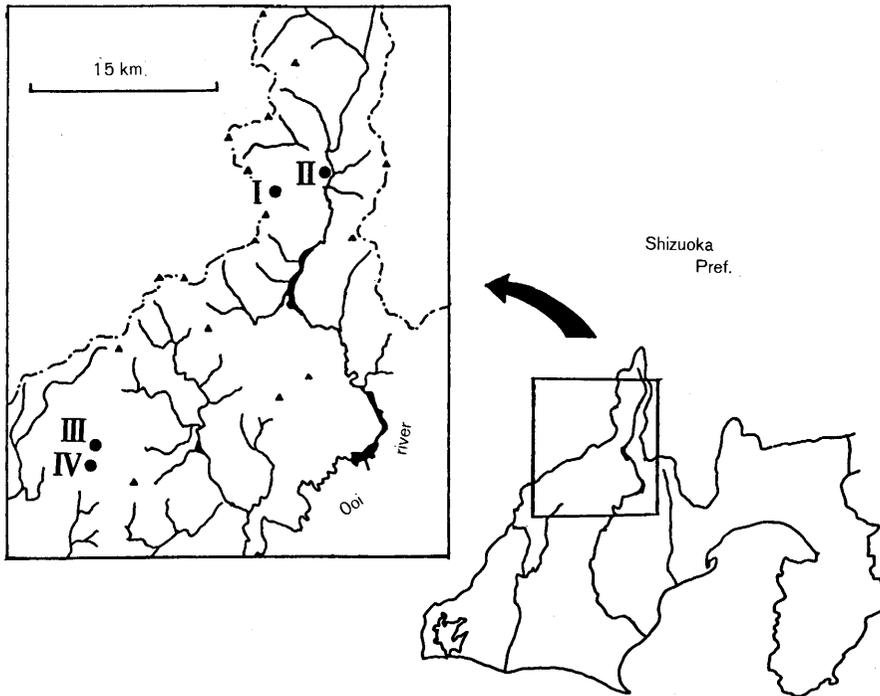


図-1 調査した天然ヒノキ集団の位置

Fig. 1. Location of investigated natural populations of *Chamaecyparis obtusa*.

表-1 調査集団の概要

Table 1. Outlines of investigated natural populations of *Chamaecyparis obtusa*

No.	集団名 Population	流域 Basin	標高 (m) Altitude	採取個体数 Sample size	備考 Other remarks
I	聖 Hijiri	大井川 Ooi riv.	2,010	49	東海パルプ社有林 Tokai Pulp Co. Forest
II	鳥森 Torimori	"	1,500	50	"
III	水窪1 Misakubo 1	天竜川 Tenryu riv.	1,700	37	戸中山国有林 64 林班 Tochusan National Forest
IV	水窪2 Misakubo 2	"	1,000	27	" 98 林班

電気泳動法、酵素の染色法等は主に津村らの方法¹⁶⁾にしたがった。

泳動用試料は、1年生枝葉約 100 mg を乳鉢を用い液体窒素中で少量の石英砂とともにすりつぶした後、100 mg の PVPP (polyvinylpoly-pyrrolidone) および 1 ml の抽出緩衝液を加えよく混ぜ合わせ、これを 1.5 ml のエッペンドルフチューブにとって、0°C、15,000 rpm で 30 分間遠沈した。遠沈後得られた上澄みを、さらに 30 分間遠沈した後得た上澄み 10 μ l をゲルに添加して泳動を行った。泳動条件は、濃縮ゲル濃度 3.75%、分離ゲル濃度 7.5% とし、4°C、13.9 mA/cm² で 90 分間泳動した。

現在のところヒノキの遺伝子としては、11 酵素種、14 遺伝子座が確定しているが¹⁸⁾、泳動像の

表-2 調査した酵素種と遺伝子座

Table 2. Investigated enzymes and detected locus

酵素種 Enzymes	略号 Abbreviations	遺伝子座 Locus
グルコース 6 リン酸脱水素酵素 Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G6PD	<i>G6p</i>
6-ホスホグルコン酸脱水素酵素 6-Phosphogluconate dehydrogenase	6PGD	<i>6Pg-1, 6Pg-2</i>
グルコキナーゼ Glucokinase	GK	<i>Gk</i>
ホスホグルコムターゼ Phosphoglucomtase	PGM	<i>Pgm</i>
アスパラギン酸アミノ転移酵素 Glutamate oxaloacetate transaminase	GOT	<i>Got</i>
パーオキシダーゼ Peroxidase	POD	<i>Pod</i>

判別の難易等分析実行上の技術的観点から、本研究では表-2 に掲げる 6 酵素種 7 遺伝子座について分析を行った。

結 果

電気泳動によるアイソザイム分析の結果、各集団における 7 遺伝子座の対立遺伝子頻度は表-4 のように決定された。

これら 4 集団では、*6 Pgd-1* はすべての集団で単型であった。その他の遺伝子座では、それぞれ 2 個の対立遺伝子が認められ多型であった。これは、現在までのヒノキアイソザイムに関する報告の結果と一致していた¹⁰⁾。

すべての集団および遺伝子座において、推定された対立遺伝子頻度から、遺伝子型の期待値を求め、観察値と期待値の間の一致度を χ^2 検定によって調べた (表-3)。 χ^2 の値はすべての集団のすべての遺伝子座で 5% 水準で有意とはいえなかった。すなわち、観察値と期待値はよく一致していた。

遺伝子の多様性を示す指標である、多型遺伝子座の割合は、もっとも頻度の高い対立遺伝子座の頻度が 0.95 以下である遺伝子座を多型遺伝子座と定義した場合、71.4~85.7% (表-4) であった。別の多様性の指標であるヘテロ接合体率は表-5 に示され、各集団の平均ヘテロ接合体率の観察値は 0.212~0.283、期待値は 0.236~0.281 であり、全集団の平均値はそれぞれ 0.251, 0.255 であった。

細分化された集団における遺伝子型頻度のハーディー・ワインベルグ比からの偏差をはかる指標である F 統計量のうち、各集団内での偏差を示す F_{IS} (近交係数) を求め (表-6)、有意性の検定を行った^{1, 8)}。この結果、すべての遺伝子座において F_{IS} の値からは 0 から有意に隔たっているとはいえず、ハーディー・ワインベルグ平衡が成り立っていた。

遺伝子多様度の指標として H_T (全集団の遺伝子多様度、全集団において任意交配が成立している場合の平均ヘテロ接合体率)、および H_S (分集団内の遺伝子多様度、各集団において任意交配が成立している場合の平均ヘテロ接合体率) は表-6 のように求められ^{1, 8)} 全遺伝子座の平均の H_T の値は 0.305 であった。また、 H_S と H_T の値から求められる、集団間の相対的遺伝的分化の程度

表-3-1 7 遺伝子座における遺伝子型と遺伝子の頻度 (集団 I)

Table 3-1. Genotype and allele frequencies for 7 isozyme loci (Population I)

観察値
Observed no. of genotypes

遺伝子型 Genotype	遺 伝 子 座 Locus						
	<i>G6pd</i>	<i>6Pgd-1</i>	<i>6Pgd-2</i>	<i>Gk</i>	<i>Pgm</i>	<i>Got</i>	<i>Pod</i>
a/a	7	49	17	46	20	1	43
a/b	22	0	24	3	20	22	6
b/b	20	0	8	0	9	26	0
合計	49	49	49	49	49	49	49

遺伝子頻度
Gene frequencies

a	0.367	1.000	0.592	0.969	0.612	0.245	0.939
b	0.633	0.000	0.408	0.031	0.388	0.755	0.061

遺伝子型の期待値
Expected no. of genotypes

a/a	6.61	49.00	17.16	46.05	18.37	2.94	43.18
a/b	22.78	0.00	23.67	2.91	23.27	18.12	5.63
b/b	19.61	0.00	8.16	0.05	7.37	27.94	0.18
χ^2	0.057	0.000	0.009	0.049	0.965	2.243	0.208

表-3-2 7 遺伝子座における遺伝子型と遺伝子の頻度 (集団 II)

Table 3-2. Genotype and allele frequencies for 7 isozyme loci (Population II)

観察値
Observed no. of genotypes

遺伝子型 Genotype	遺 伝 子 座 Locus						
	<i>G6pd</i>	<i>6Pgd-1</i>	<i>6Pgd-2</i>	<i>Gk</i>	<i>Pgm</i>	<i>Got</i>	<i>Pod</i>
a/a	7	50	9	48	34	0	43
a/b	22	0	28	2	15	15	6
b/b	21	0	13	0	1	35	1
合計	50	50	50	50	50	50	50

遺伝子頻度
Gene frequencies

a	0.360	1.000	0.460	0.980	0.830	0.150	0.920
b	0.640	0.000	0.540	0.020	0.170	0.850	0.008

遺伝子型の期待値
Expected no. of genotypes

a/a	6.48	50.00	10.58	48.02	34.44	1.13	42.32
a/b	23.04	0.00	24.84	1.96	14.11	12.75	7.36
b/b	20.48	0.00	14.58	0.02	1.45	36.12	0.32
χ^2	0.102	0.000	0.809	0.021	0.199	1.557	1.707

表-3-3 7 遺伝子座における遺伝子型と遺伝子の頻度 (集団 III)

Table 3-3. Genotype and allele frequencies for 7 isozyme loci (Population III)

観察値 Observed no. of genotypes							
遺伝子型 Genotype	遺 伝 子 座 Locus						
	<i>G6pd</i>	<i>6Pgd-1</i>	<i>6Pgd-2</i>	<i>Gk</i>	<i>Pgm</i>	<i>Got</i>	<i>Pod</i>
a/a	4	37	14	33	28	5	33
a/b	20	0	19	3	8	13	4
b/b	13	0	4	1	1	19	0
合計	37	37	37	37	37	37	37
遺伝子頻度 Gene frequencies							
a	0.378	1.000	0.635	0.932	0.865	0.311	0.946
b	0.622	0.000	0.365	0.068	0.135	0.689	0.054
遺伝子型の期待値 Expected no. of genotypes							
a/a	5.29	37.00	14.92	32.17	27.67	3.58	33.11
a/b	17.40	0.00	17.15	4.66	8.65	15.85	3.78
b/b	14.31	0.00	4.93	0.17	0.68	17.57	0.11
χ^2	0.823	0.000	0.431	4.073	0.208	1.197	0.121

表-3-4 7 遺伝子座における遺伝子型と遺伝子の頻度 (集団 IV)

Table 3-4. Genotype and allele frequencies for 7 isozyme loci (Population IV)

観察値 Observed no. of genotypes							
遺伝子型 Genotype	遺 伝 子 座 Locus						
	<i>G6pd</i>	<i>6Pgd-1</i>	<i>6Pgd-2</i>	<i>Gk</i>	<i>Pgm</i>	<i>Got</i>	<i>Pod</i>
a/a	2	27	7	26	20	1	23
a/b	9	0	14	1	5	8	3
b/b	16	0	6	0	2	18	1
合計	27	27	27	27	27	27	27
遺伝子頻度 Gene frequencies							
a	0.241	1.000	0.519	0.981	0.833	0.185	0.907
b	0.759	0.000	0.481	0.019	0.167	0.815	0.093
遺伝子型の期待値 Expected no. of genotypes							
a/a	1.57	27.00	7.26	26.01	18.75	0.93	22.23
a/b	9.87	0.00	13.48	0.98	7.50	8.15	4.54
b/b	15.56	0.00	6.26	0.01	0.75	17.92	0.23
χ^2	0.210	0.000	0.040	0.010	3.000	0.009	3.099

表-4 4集団における7遺伝子座の対立遺伝子頻度

Table 4. Allele frequencies for 7 loci in 4 populations of *Chamaecyparis obtusa*

遺伝子座 Locus	対立遺伝子 Allele	対立遺伝子頻度 Allele frequency				平均 Mean
		I	II	III	IV	
<i>G6pd</i>	a	0.367	0.360	0.378	0.241	0.339
	b	0.633	0.640	0.622	0.759	0.661
<i>6Pgd-1</i>	a	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>6Pgd-2</i>	a	0.592	0.460	0.635	0.519	0.552
	b	0.408	0.540	0.365	0.481	0.449
<i>Gk</i>	a	0.969	0.980	0.932	0.981	0.965
	b	0.031	0.020	0.068	0.019	0.035
<i>Pgm</i>	a	0.612	0.830	0.865	0.833	0.785
	b	0.388	0.170	0.135	0.167	0.215
<i>Got</i>	a	0.245	0.150	0.311	0.185	0.223
	b	0.755	0.850	0.689	0.815	0.777
<i>Pod</i>	a	0.939	0.920	0.946	0.907	0.928
	b	0.061	0.080	0.054	0.093	0.072
多型遺伝子座の割合 Proportion of polymorphic loci		71.4	71.4	85.7	71.4	71.4

表-5 4集団における7遺伝子座のヘテロ接合体率

Table 5. Observed and expected heterozygosity for 7 isozyme loci in 4 populations of *Chamaecyparis is obtusa*

遺伝子座 Locus	観 察 値 Observed				平均 Mean	期 待 値 Expected				平均 Mean
	I	II	III	IV		I	II	III	IV	
<i>G6pd</i>	0.449	0.440	0.541	0.333	0.441	0.465	0.461	0.470	0.366	0.442
<i>6Pgd-1</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>6Pgd-2</i>	0.490	0.560	0.514	0.519	0.520	0.483	0.497	0.464	0.499	0.486
<i>Gk</i>	0.061	0.040	0.081	0.037	0.055	0.060	0.039	0.127	0.037	0.066
<i>Pgm</i>	0.408	0.300	0.216	0.185	0.277	0.475	0.282	0.234	0.278	0.317
<i>Got</i>	0.449	0.300	0.351	0.296	0.349	0.370	0.255	0.429	0.302	0.339
<i>Pod</i>	0.122	0.120	0.108	0.111	0.115	0.115	0.147	0.102	0.169	0.133
Mean	0.283	0.251	0.259	0.212	0.251	0.281	0.240	0.261	0.236	0.255
S. E.	0.080	0.079	0.081	0.069	0.076	0.081	0.073	0.074	0.068	0.071

を表す指標 G_{ST} は 0.019 であった。

さらに、集団間の遺伝的な隔たりの指標である、 NEI の遺伝距離⁸⁾を求めると、各集団間で 0.004~0.014 であった (表-7)。

考 察

全集団で、表現型の観察値と期待値が一致したことは、各集団を任意交配集団とみなし得ることを示している。すなわち、以下における遺伝子多様度等の指標が、集団の遺伝的特徴を説明す

表-6 4集団における遺伝的変異の指標

Table 6. Indicators of genetical Variation between and within 4 populations of *Chamaecyparis obtusa*

Locus	F_{IS}	H_S	H_T	G_{ST}
<i>G6pd</i>	0.002	0.442	0.448	0.015
<i>6Pgd-1</i>	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>6Pgd-2</i>	-0.072	0.486	0.495	0.018
<i>Gk</i>	0.167	0.066	0.067	0.012
<i>Pgm</i>	0.126	0.317	0.338	0.060
<i>Got</i>	-0.031	0.339	0.346	0.022
<i>Pod</i>	0.133	0.133	0.134	0.004
Mean	0.047	0.297	0.305	0.019

る上で意味のあることを示している。

遺伝的多様性は多型遺伝子座の割合および1遺伝子座あたりの対立遺伝子数、ヘテロ接合体率などによって測定される⁸⁾。本研究の場合、分析した遺伝子座の数が少なく、多くの単型遺伝子座を測定していないため、1遺伝子座あたり

の対立遺伝子数は計算できない。また、多型遺伝子座の割合は表-4に示されるように便宜的に計算はできるが、分析した遺伝子座の数や多型とみなす場合の尺度などに影響され、本研究のように分析遺伝子座の数の少ない場合、多様性の指標としては不十分である⁸⁾。

もうひとつの多様性の指標であるヘテロ接合体率については、各遺伝子座における4集団の平均ヘテロ接合体率を基準に、集団ごとの変異を見ると、遺伝子座によっては集団により大きくずれがみられるものが認められる(図-2)。集団Iの*Pgm*、集団IIIの*Gk*などがそれである。これらは、過去の集団成立更新条件等が影響しているものと考えられ、現在の集団の遺伝的特徴と考えられる。

集団間の遺伝的変異の大きさを見ると、平均ヘテロ接合体率の期待値のもっとも高かった集団は集団Iであった。このことから、この集団はほかの集団に比べ遺伝的な多様性が高いと考えられる。

しかし、各集団ごとの全遺伝子座に対する平均ヘテロ接合体率の変異はそれほど大きくなく、集団間の遺伝的変異の大きさには大きな差がないと考えられる。一方、UCHIDAらの結果では、3集団の13遺伝子座の平均ヘテロ接合体率の期待値の平均は0.228(0.202~0.265)であり¹⁹⁾、本研究の結果と大きな差は認められなかった。すなわち、本研究で得られた平均ヘテロ接合体率は、この地方のヒノキ天然林において一般的に認められる範囲の遺伝的変異量を示していると考えられる。

F_{IS} の値からみると、各遺伝子座においてハーディー・ワインベルグ比からのずれは大きくなく、各集団内で遺伝的平衡を乱す特別な要因(淘汰や交配の不均衡など)は働いていないものと考えられる¹⁾。

また、 G_{ST} の値が0.019と小さかったことは、全集団の遺伝変異のうち、わずか1.9%が集団間

表-7 4集団間の遺伝距離

Table 7. Nei's genetic distances between 4 populations of *Chamaecyparis obtusa*

	I	II	III	IV
I 聖	0.000	0.014	0.014	0.014
II 鳥森		0.000	0.012	0.004
III 水窪1			0.000	0.011
IV 水窪2				0.000

表-8 4集団間の地理的距離

Table 8. Geographical distances between 4 populations of *Chamaecyparis obtusa* (km)

	I	II	III	IV
I 聖	0	4	30	30
II 鳥森		0	30	30
III 水窪1			0	3
IV 水窪2				0

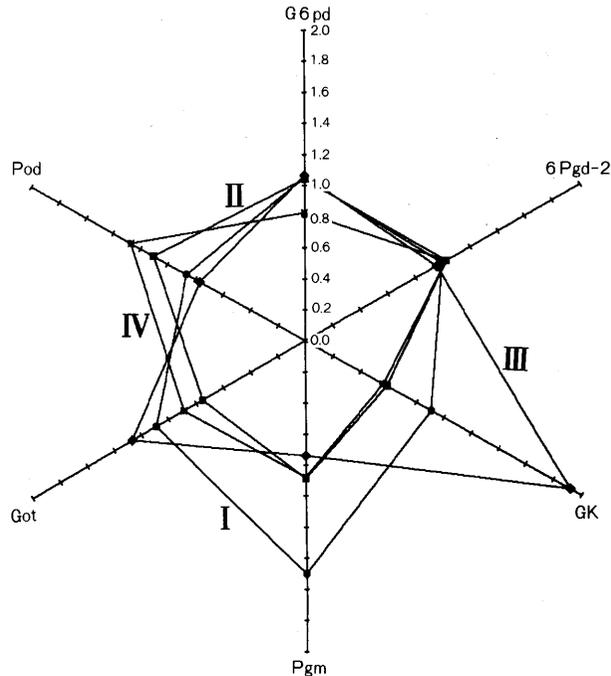


図-2 6個の多型遺伝子座における平均ヘテロ接合体率の期待値の集団による片寄り

Fig. 2. Populational difference of expected heterozygosity for six polymorphic loci.

注) 各遺伝子座の平均ヘテロ接合体率を1.0として表示

Note: Mean heterozygosity for four populations are shown as 1.0 on this graph.

の変異によるものであり、変異の大部分 98.1% はそれぞれの集団内に存在するということを示している。

さらに、遺伝距離についてみると、その値は 0.004~0.014 と小さく (表-7)、これからも集団間の遺伝的分化の程度が小さいことがわかる。ここで、遺伝距離と表-8 に示す実際の距離との関係を見ると、それぞれの間には特別な関係は認められないことがわかる。すなわち、流域がことなっても遺伝的分化の程度に大きな違いがないことを示している。

以上のように本研究で調査した4集団については、ことなる2流域から抽出されたにもかかわらず、それぞれに存在する遺伝変異に関しては、集団により遺伝子頻度の若干の違いはあるものの、全体として集団間の変異は少なく、かつ遺伝的分化の程度が低い、基本的には遺伝的に似通った集団であると結論できる。

UCHIDA らは、大井川流域の3集団2グループのヒノキ天然林についてアイソザイム分析を行い、集団間の分化の程度は低いと述べている¹⁹⁾。本研究ではさらに広範囲の集団を調査し、同様の結論を得た。UCHIDA らの調査集団¹⁹⁾と本研究の調査集団を通して、共通の遺伝子座について遺伝的変異の指標を計算した結果、表-9 のようになった。7集団間の変異については、 G_{ST} の値は 0.024 と4集団の場合より若干増えたものの、やはり変異の大部分 (97.6%) は各集団内に存在した。

表-9 7 集団の遺伝的変異の指標*

Table 9. Indicators of genetical variation between and within 7 populations *Chamaecyparis obtusa**

Locus	F_{IS}	H_S	H_T	G_{ST}
<i>G6pd</i>	-0.012	0.460	0.471	0.023
<i>6Pgd-1</i>	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>6Pgd-2</i>	-0.092	0.486	0.493	0.014
<i>Gk</i>	0.114	0.052	0.053	0.019
<i>Pgm</i>	0.101	0.266	0.287	0.073
<i>Got</i>	0.005	0.327	0.333	0.018
<i>Pod</i>	0.073	0.168	0.172	0.023
Mean	-0.002	0.251	0.258	0.024

* UCHIDA ら¹⁹⁾の3 集団のデータを加えて7 集団として計算した値。

* Data of 3 populations by UCHIDA *et al.*¹⁹⁾ were added to our data.

さらに、*Pod* および *Got* 遺伝子座における遺伝的変異を、SHIRAISHI らによる木曾地方の天然林¹⁵⁾、清藤らの富士山青木ケ原の天然林の値¹¹⁾などと比較すると、やはり集団間の分化の程度は低くかった。また、清藤は、青木ケ原を含む山梨県内の3 集団についての遺伝分析の結果、それらの遺伝的分化の程度は低いことを述べている¹²⁾。すなわち、本研究の結果を含め、本州中央部のヒノキ天然林は、全体としてアイソザイム遺伝子に関しては、遺伝的に比較的均質である可能性が高いということを指摘できる。

これらの事実を含め、さらに広範囲のヒノキ天然林についてのアイソザイム分析結果が得られれば、今後、地史的にみたヒノキの分布の拡大や縮小などについても議論することが可能になると考えられる。また、ヒノキの遺伝子資源保存や利用のための指標として利用できるものと考えられる。

アイソザイム遺伝子の変異は環境要因に対して基本的に中立であり、集団の基本的な遺伝的特徴を明らかにすることができる。しかし、これは必ずしも他の実用形質等についての遺伝的変異の情報をあらわすものではない。秩父地方のヒノキ天然林についての成長調査結果などから、標高別の成長変異の存在の可能性が指摘されており⁷⁾、こうした形質についても、別途研究を進めることが必要である。

要 旨

南アルプスの大井川、天竜川流域の各2 集団計4 集団について、平板ポリアクリルアミドゲル垂直電気泳動法により、6 酵素種7 遺伝子座のアイソザイム分析を行い、集団の遺伝的変異について検討した。分析した酵素種は、グルコース6 リン酸脱水素酵素 (*G6PD*)、6-ホスホグルコン酸脱水素酵素 (*6PGD*)、グルコキナーゼ (*GK*)、ホスホグルコムターゼ (*PGM*)、アスパラギン酸アミノ転移酵素 (*GOT*)、パーオキシターゼ (*POD*) である。これら集団の平均ヘテロ接合体率は0.255、集団間の遺伝的分化の程度を示す G_{ST} は0.019 であった。すなわち、これらの集団の分化

また、これら7 集団の間の遺伝距離は、0.003~0.031 となった。本研究のように比較的多型の程度の高い遺伝子座についての分析結果から、遺伝距離を求めた場合、単型あるいは多型の程度の低い遺伝子座を含めて、多数の遺伝子座の値に基づいて遺伝距離を計算した場合に比べて、その値は過大に評価されることになるので、この値を直ちに他の文献の値と比較することはできない。しかし、分析した遺伝子座が2 個とさらに少ない SHIRAISHI ら¹⁵⁾の結果 (0.004~0.150) と比較しても、最大値の0.031 という値はそれほど大きい値とはいえない。

すなわち、これらのことから、各集団の遺伝的分化の程度は低く、大井川、天竜川流域のヒノキ天然林の集団は、遺伝的に均質であろうという結論が支持された。

の程度は低く、似通った遺伝的特徴を備えていると判断された。また、本研究および UCHIDA ら (1991) の結果から、南アルプスの静岡県側に分布するヒノキ天然林全体について、集団間の分化の程度が低いことが推定された。

キーワード：ヒノキ，天然林，アイソザイム，遺伝的変異，遺伝的分化

引用文献

- 1) HARTL, D. and CLARK, A.: Principles of population genetics, Second Edition. pp. 682, Sinauer associates, Sunderland, Massachusetts., 1988.
- 2) 井出雄二・懸富美夫・鈴木久雄・鳥居春己・山本茂弘・佐野信幸：南アルプス聖岳東山腹に生育する天然性ヒノキ—現地の状況とその増殖—。林木の育種，**152**, 26-30, 1989.
- 3) ———・近藤 晃・山本茂弘：低台式採種園方式による「聖ヒノキ」のさしき増殖。日林誌，**73**(4), 301-305, 1991.
- 4) 近藤 晃・山本茂弘・井出雄二：低台式採種園方式による「聖ヒノキ」のさし木増殖—未発根さし穂の再さしつけの効果—。102 回日林論，399-400, 1991.
- 5) ———・—————：天然性ヒノキ「聖ヒノキ」の低台式クローン採種園方式によるさし木の発根性について。静岡県林技セ研報，**19**, 17-23, 1991.
- 6) ———・清藤城宏・北村系子：静岡県のヒノキ精英樹採種園におけるアイソザイム変異。40 回日林中支論，95-96, 1992.
- 7) 栗田直明・岩本則長・石塚孝一・渡邊定元・井出雄二：秩父地方天然性ヒノキ植栽試験 (I)—植栽 10 年目の成長—。103 回日林論，投稿中。
- 8) NEI, M.: Molecular evolutionary genetics. pp. 512, Columbia University Press, New York., 1987.
- 9) 奥泉久人・北村系子・白石 進：アイソザイムを用いたマツ，スギ，ヒノキの林業用品種の同定。林木の育種，特別号，16-20, 1990.
- 10) 清藤城宏：ヒノキ採種園におけるアイソザイム変異と自殖率の推定。101 回日林論，301-302, 1990.
- 11) ———・鈴木賢一・白石 進：富士山麓青木ヶ原におけるヒノキ天然林のアイソザイム変異。日林誌，**69**(9), 359-361, 1987.
- 12) ———：山梨県におけるヒノキ天然林のアイソザイム変異。材木の育種，**160**, 10-11, 1991.
- 13) 白石 進・上中久子：ヒノキ針葉パーオキシターゼ・アイソザイムの遺伝・94 回日林論，287-288, 1983.
- 14) ———・—————・西村慶二：ヒノキ針葉および花粉のアスパラギン酸アミノ転移酵素アイソザイムの遺伝。日林誌，**68**(12), 499-504, 1986.
- 15) SHIRAIISHI, S., KAMINAKA, H. and OHYAMA, N.; Genetic variation and differentiation recognized at two allozyme loci in hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). J. Jpn. For. Soc., **69**(3), 88-93, 1987.
- 16) 鈴木賢一・奥泉久人・白石 進：栃木県におけるヒノキ採種園の構成クローンの遺伝的変異。100 回日林論，297-298, 1989.
- 17) 田島正啓・宮島 寛・宮崎安貞：ヒノキパーオキシターゼ・アイソザイムの遺伝分析。日林誌，**59**, 173-177, 1977.
- 18) 津村義彦・戸丸信弘・陶山佳久・モハマド=ナイム・大庭喜八郎：アイソザイム実験法。筑波大演報，**6**, 63-95, 1990.
- 19) UCHIDA, K., TSUMURA, Y. and OHBA, K.; Inheritance of isozyme variants in leaf tissue of hinoki, *Chamaecyparis obtusa*, and allozyme diversity of two natural forests. Jpn. J. Breed, **41**(1), 11-24, 1991.

(1992 年 4 月 28 日受理)

Summary

The genetic variation of four natural populations of *Chamaecyparis obtusa* distributed around the South Japan Alps was investigated. Six enzyme systems with 7 loci were surveyed by polyacrylamide vertical slab gel electrophoresis. Surveyed enzyme systems were Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), 6-Phosphogluconate dehydrogenase (6 PGD), Glucokinase(GK), Phosphoglucomtase (PGM), Glutamate oxialoacetate transaminase (GOT) and Peroxidase (POD). Mean expected heterozygosity of the four populations was 0.255 and G_{ST} , which is an index of gene diversity between populations, was 0.019. The genetic distance between populations was 0.004–0.014 indicating that there is little genetic differentiation between these four populations. Based on the results of the present paper and UCHIDA (1991), we discerned that the natural populations of *Chamaecyparis obtusa* distributed around the Shizuoka Prefecture side of the South Japan Alps are hardly differentiated genetically.

Key words: *Chamaecyparis obtusa*, Natural population, Isozyme, Genetic diversity, Genetic differentiation