

山陰地域を中心としたキシツツジ *Rhododendron ripense* Makino の 形態的調査と葉緑体 DNA 分析による遺伝資源評価

小林伸雄^{1*}・應地信宏¹・嬉野健次²・中務 明¹・細木高志¹

¹ 島根大学生物資源科学部 690-8504 島根県松江市西川津町

² 岩手大学農学部 020-8550 岩手県盛岡市上田

Evaluation of Genetic Resources of *Rhododendron ripense* Makino in San-in Area, Japan, Based on Morphological Characters and Chloroplast DNA Polymorphism

Nobuo Kobayashi^{1*}, Masahiro Oji¹, Kenji Ureshino², Akira Nakatsuka¹ and Takashi Hosoki¹

¹ Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Matsue, Shimane 690-8504

² Faculty of Agriculture, Iwate University, Morioka, Iwate, 020-8550

Abstract

The natural populations of *Rhododendron ripense* Makino distributed in the San-in and Shikoku area, Japan, were investigated for the application in breeding materials. Genetic diversity was evaluated based on their morphological characters and chloroplast DNA polymorphism. Wild habitats of *R. ripense* in the San-in area have been considered to be disturbed by construction of dams and river improvements compared to vegetation of about 40 years ago. *R. ripense* in the San-in area have flower corolla of approximately 6 cm diameter and showed local morphological diversity in corolla broche and sepal length. They tended to have bigger corolla diameter, deeper broche color and wider leaves than flowers of the Shikoku area. On principal component analysis, the first and second principal component had a high contribution ratio in morphological characteristics of flower and leaf. In the scatter diagram of distribution, the main San-in river populations were distributed closely, whereas the west San-in and Shikoku river populations were distributed beyond these areas. The sequence mutation that indicates local genetic diversity was detected in intron of *trnW-trnP* on chloroplast DNA. The populations in the San-in river area have mainly TA sequence type, whereas those of the Shikoku river area showed both TA and AT sequence types.

Key Words : genetic diversity, PCR-SSCP analysis, principal component analysis

キーワード : 遺伝的多様性, PCR-SSCP 分析, 主成分分析

緒 言

キシツツジ (*Rhododendron ripense* Makino) は、ツツジ亜属モチツツジ亜節モチツツジ列に属し、モチツツジ (*R. macrosepalum* Maxim.) と近縁の本邦固有の常緑性ツツジである。その分布域は中国、四国および九州の一部(大分県)で、河川の上・中流域の河岸の岩上等に自生している(Yamazaki, 1996)。花は淡紫紅色で観賞価値が高く、リュウキュウツツジ (*R. × mucronatum* G. Don) やオオムラサキ (*R. × pulchrum* Sweet) の成立に関わったとされている(伊延, 1971)。また、耐湿性と耐乾性をあわせ持ち、春季および秋季の二季咲き性のものもあることから(国重, 1976)、新しい特性を備えたツツジ品種作出のための育種素材とし

て積極的な活用が期待される。

山陰地域で、春に河岸に咲くキシツツジはカワツツジやイワツツジと呼ばれて親しまれ、古くより各地の寺社仏閣、公園および人家の庭等への植栽に利用されてきた。山陰地域におけるキシツツジ自生地状況や集団内にみられる形態変異等については清水・遠山(1967, 1970a, b) および遠山(1971)の、四国地域については山口ら(1996)の報告があるが、花や葉に関する詳細な形態調査は行われていない。また、特に山陰地域の自生地調査からはすでに40年近く経過しており、河川改修等により自生地の環境も大きく変化している。

本研究ではキシツツジを花卉遺伝資源として評価し育種の活用をはかることを目的として、山陰地域の島根県および鳥取県の河川に自生するキシツツジを中心に、四国地域の河川の自生集団もあわせて調査を行った。具体的には自生地における形態的形質の分析および葉緑体DNA解析から、キシツツジの遺伝的多様性を評価した。

2007年9月7日 受付. 2007年11月9日 受理.

本報告の一部は園芸学会平成16年度秋季大会および平成17年度春季大会で発表した。

* Corresponding author. E-mail: nkobayashi@life.shimane-u.ac.jp

材料および方法

1. 形態学的調査

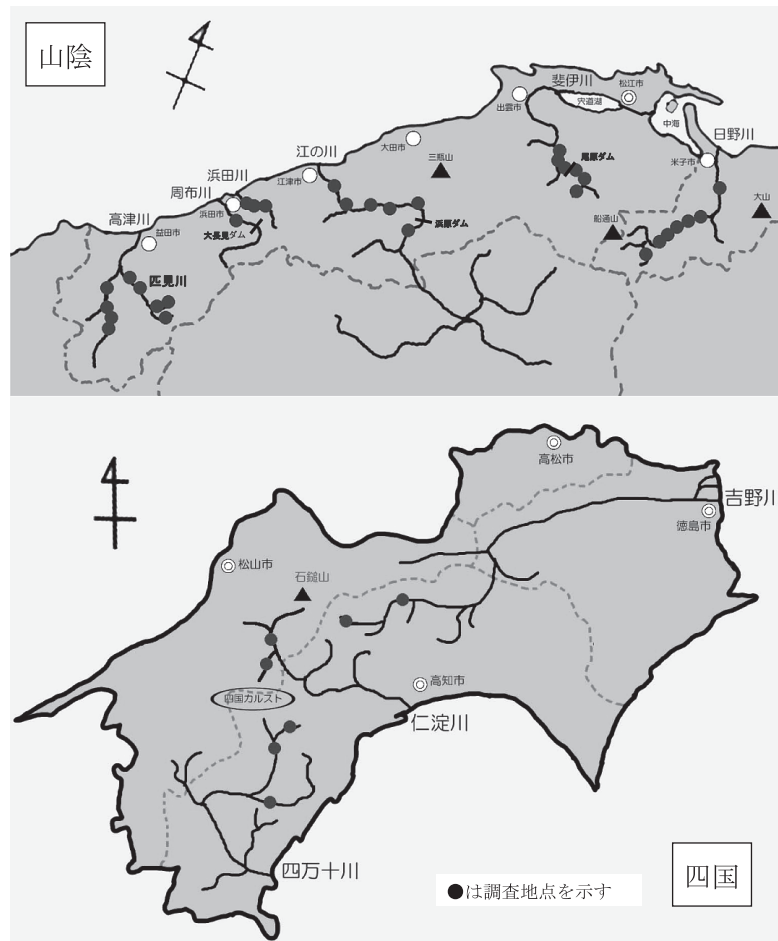
1) 自生地における形態調査

2004年4月上旬から5月下旬にかけて、山陰地域の島根県および鳥取県内のキシツツジが自生する6河川(日野川, 斐伊川, 江の川, 浜田川, 周布川および高津川)の計32地点において合計291個体, また四国地域の3河川(四万十川, 仁淀川, 吉野川)の計7地点において合計87個体の形

態調査ならびに自生状況調査を行った(第1表, 第1図). 調査項目は花冠径, 花色(RHSカラーチャート), 花冠のブロッツの濃さの程度(無:0, 微:1, 中:2, 強:3), 花の香りの強さの程度(無:0, 微:1, 弱:2, 中:3), 変異花の有無, がく片長, 葉長および葉幅とした. また, 葉の形態について詳しく調査するため, 同年の7月から8月に山陰地域の各河川において計108個体から新梢に展開した夏葉のデータを測定した.

第1表 本研究におけるキシツツジの調査地点

河川名	調査地番号	調査地	緯度	経度
日野川	日野川 1	江府町溝口町境	N35°18'26.4"	E133°28'08.4"
	日野川 2	黒坂	N35°12'52.3"	E133°24'09.6"
	日野川 3	上黒坂	N35°12'02.3"	E133°22'54.1"
	日野川 4	新黒坂橋上流	N35°11'54.4"	E133°22'48.4"
	日野川 5	乗越橋下	N35°11'22.7"	E133°21'18.8"
	日野川 6	福長	N35°11'15.1"	E133°20'10.1"
	日野川 7	石霞溪	N35°09'35.6"	E133°19'36.9"
斐伊川	斐伊川 1	さるわたり橋	N35°14'00.7"	E132°54'10.2"
	斐伊川 2	天ヶ淵	N35°13'35.8"	E132°54'46.4"
	斐伊川 3	湯村温泉	N35°12'46.9"	E132°54'36.8"
	斐伊川 4	尾原ダム	N35°13'21.0"	E132°57'15.1"
	斐伊川 5	仁多町つり橋下	N35°12'09.6"	E132°59'58.6"
	斐伊川 6	鬼の舌震	N35°10'07.1"	E133°01'21.5"
	斐伊川 7	鬼の舌震(下高尾)	N35°09'40.6"	E133°01'17.0"
江の川	江の川 1	江津市	N35°00'16.6"	E132°16'42.7"
	江の川 2	桜江町大口	N34°57'55.5"	E132°19'41.0"
	江の川 3	桜江町羅漢橋下	N34°57'31.6"	E132°21'48.1"
	江の川 4	川越鹿賀間	N34°57'16.7"	E132°26'05.2"
	江の川 5	邑智町船着場	N35°04'08.5"	E132°35'24.7"
	江の川 6	浜原ダム(西側)	N35°02'30.7"	E132°36'04.9"
	江の川 7	浜原ダム(東側)	N35°01'58.1"	E132°36'32.4"
浜田川	浜田川 1	伊木温泉	N34°51'10.9"	E132°08'24.4"
	浜田川 2	七条道沿い	N34°51'23.5"	E132°08'29.5"
	浜田川 3	七条橋下	N34°51'40.6"	E132°08'56.0"
周布川	周布川 1	長見	N34°49'44.3"	E132°05'32.7"
高津川(匹見川)	高津川 1	益田市	N34°34'54.2"	E131°54'29.2"
	高津川 2	匹見町	N34°35'18.5"	E131°54'46.6"
	高津川 3	表匹見峡魚飛	N34°34'27.7"	E132°03'09.7"
	高津川 4	表匹見峡崎田トンネル	N34°35'51.6"	E132°03'44.8"
	高津川 5	裏匹見峡	N34°32'46.4"	E132°02'15.5"
高津川(本流)	高津川 6	日原町下小瀬	N34°34'05.4"	E131°47'42.6"
	高津川 7	日原天文台下	N34°32'04.1"	E131°50'31.5"
	高津川 8	犬戻し地藏下	N34°31'49.4"	E131°51'38.0"
	高津川 9	砕石場下	N34°31'20.7"	E131°51'50.9"
四万十川	四万十川 1	大正町	N33°10'52.9"	E133°02'43.8"
	四万十川 2	北川 影地	N33°14'00.8"	E132°59'04.9"
	四万十川 3	北川 大古味	N33°21'23.3"	E132°59'41.2"
仁淀川	仁淀川 1	黒川	N33°31'13.4"	E132°58'07.3"
	仁淀川 2	美川村 橋下	N33°34'09.3"	E133°00'21.5"
吉野川	吉野川 1	大川村	N33°47'40.2"	E133°22'59.4"
	吉野川 2	白猪谷溪谷	N33°44'57.4"	E133°12'01.9"



第1図 山陰および四国地域の各河川におけるキシツツジの調査地点

2) 形態調査データを用いた多変量解析

山陰および四国の各河川集団の形態調査データについて総合的な特徴を比較するため、多変量解析を行った。解析には花器データの無い四万十川を除く8河川計132個体について、花冠径、花色、ブロッチの程度、がく片長、葉長、葉幅および葉幅/葉長の7項目を標準化したものを用いた。主成分分析はEXCEL 多変量解析 Ver. 5.0を使用した。

2. 葉緑体 DNA 変異の解析

1) 供試材料と DNA 抽出

2004年春に形態調査を行った山陰地域6河川および四国地域3河川のキシツツジを材料とし、凍結保存した葉から改変CTAB法(Kobayashiら, 1998)により全DNA抽出を行った。

2) PCR-SSCP 分析による葉緑体 DNA 多型検出

山陰および四国地域の9河川から採取した各2個体、合計18個体を供試し、葉緑体DNAの3領域(*trnL-trnF*, *trnW-trnP*, *atpF* intron) (Nishizawa・Watano, 2000; Taberletら, 1991)について、PCR-SSCP分析で多型の検出を行った。Nishizawa・Watano (2000) および Taberletら (1991) の方法に従って増幅したPCR産物を94°Cで3分間熱変性処理し、ただちに氷上で急冷した後、10%グリセリンを含むアクリルアミ

ドゲルを用いて4°C 100 V下で8時間電気泳動した。その後、ゲルを銀染色し、多型の検出を行った。このうち、多型が得られた*trnW-trnP*領域については、PCR産物をエタノール沈殿により精製した後、BigDye Terminator Cycle Sequencing Version 2.0 Ready Reaction Kit (Applied Biosystems)を用いて、ABI PRISM 377-18 (Applied Biosystems)にて塩基配列決定を行った。最終的に9河川合計52個体について、塩基配列決定し、各河川の自生集団間での比較を行った。

結果および考察

1. 自生状況調査

山陰地域におけるキシツツジの自生地調査(第1表, 第1図)において、日野川では、中流域の山間部にかかる地域からキシツツジの生育環境に適した岩場があり、特に日野町黒坂地域は本河川中で最も多く自生が確認された地域であった。斐伊川では日野川同様に下流域の自生は確認できなかったが、山間部に入ると岩場が増え、数地点で自生が確認された。また、斐伊川の島根県雲南市の尾原地区ではダム建設が進行しており、2004年に調査を行った自生地は2006年から水没し、消滅した。江の川は河口域にほとんど平野部を有せず、山間部から直接海に流入する河川で、

比較的河口に近い地点でも自生が確認された。しかし、道路拡張や河川改修に伴う護岸改修箇所が各所で見受けられ、上流部の邑智郡邑智町の浜原ダムより上流域では群落状の自生地を見つけることが出来なかったことから、遠山（1971）の報告と比較して、消滅した自生地もあると考えられた。二級河川の浜田川と周布川は河川長が他の河川よりも著しく短く、山間部ではダムが建設されている。そのため、キシツツジ自生地は、浜田川では浜田ダムよりも上流部でのみ、また、周布川では大長見ダムより下流部でのみ確認できた。高津川では、本流の上流部および支流の匹見川で比較的広範囲にキシツツジの自生が確認され、特に匹見川ではその個体数も多く、分布域も広がった。

四国地域の河川における調査（第1表、第1図）では、四万十川、仁淀川および吉野川の本流および支流の各所で多くの自生が確認された。ここでは山陰地域の河川と比べると中流域から上流域の広範囲に個体数も多く自生している傾向が明らかであり、これは分布密度の地域性によるものだけでなく、四国地域ではダム建設や河川改修による自生地環境の破壊が進んでいないことも一因であると考えられる。また、吉野川上流の高知県土佐郡本川村白猪谷溪谷では標高約750m地点で自生集団が確認されるなど、山陰地域では自生のみられない高標高地域にも自生している点の特徴的であった。なお、これらの自生地の多くの地点ではすでに開花時期を過ぎていたため、花器の形質に関する調査は上流部の集団を中心に行った。

キシツツジは河川が山間部に入り、その河岸に岩石が露出し、かつ日当たりが良い場所を中心に自生している（国重, 1976; Yamazaki, 1996）。高津川とその支流である匹見川は、今回の調査結果や遠山（1971）が述べている通り、キシツツジの自生が山陰地域で最も多い地域であった。この理由として高津川水系に規模の大きなダムが存在しないこと、また本水系上流域には集落が少なく、キシツツジの自生に適する河川環境が良好に維持されていること等が考えられた。しかし、山陰地域の自生地全体では、清水・遠山

（1967, 1970a, b）および遠山（1971）の当時の報告に比べて、ダム建設や護岸工事等により自生地が狭まり、明らかに自生集団が減少している傾向が窺われた。以上のことを考慮すると自生地保護を早急に進める必要があると考えられた。

2. 形態調査

形態調査の結果を第2表に示した。山陰地域のキシツツジの花冠径は約6cmで、河川集団間の差はほとんどみられなかった。花冠のプロッチは斐伊川、江の川、周布川、高津川の河川集団で濃く、それに比べて日野川、浜田川はやや薄い傾向を示した。また日野川でプロッチの無い個体や、周布川でプロッチの非常に濃い個体が確認された。がく片長についても西部の高津川、周布川、浜田川で長い傾向がみられた。香りは各河川集団の平均では差はないが、各集団で個体によって香りの強弱があることが確認された。その他の花および葉の形質については山陰地域の集団間では明確な差は認められなかった。これらの形質を四国のキシツツジ自生集団の形態形質と比較すると、山陰地域の自生集団では花冠が約1cm大型でプロッチが濃く、幅広の葉を有する傾向が認められた（第2表）。ただし、花の形質については四国地域の一部の集団から得られたデータとの比較であるため、今後、四国各地の集団をさらに調査する必要がある。

花器形質の変異についてみると、通常キシツツジは5花冠裂片10雄ずいのところ、6～7裂片で11～13雄ずいに増加した花を有する個体が各河川の集団で0～15%程度観察された（第2表）。なかには雄ずいが花弁化した個体もみられ、これらの変異個体は育種素材として有用であると考えられた。

花色は、各河川集団で鮮紫ピンクまたは紫ピンク（RHSCC No. 75）が最も出現率が高く、同じ鮮紫ピンクでも濃淡の違いがみられた（第2図）。また、日野川で淡紫ピンク（RHSCC No. 69）、斐伊川および江の川で濃い鮮紫ピンク（RHSCC No. 72）の個体が観察されるなど、地域や個

第2表 山陰および四国地域の各河川のキシツツジ集団における花器および葉に関する形質調査結果

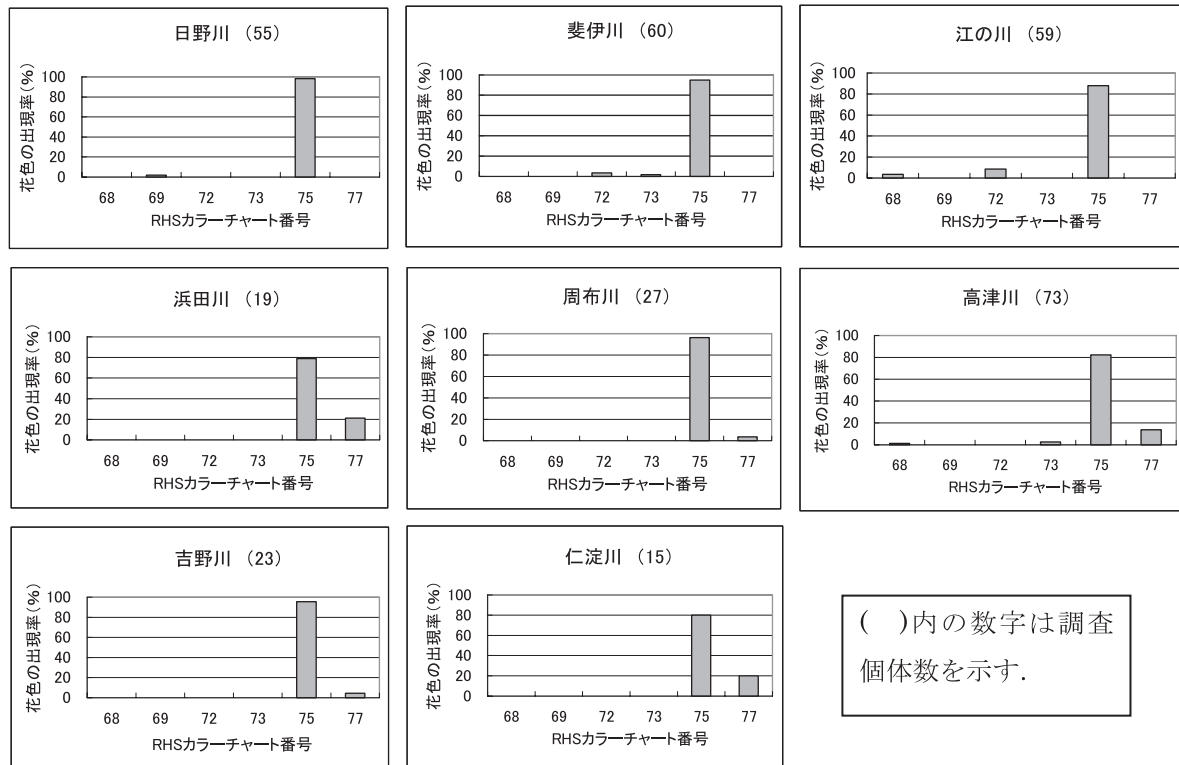
	調査個体数	花冠径 (cm)	プロッチの程度 ^z	香りの程度 ^y	がく片長 (cm)	葉長 (cm)	葉幅 (cm)	葉幅/葉長	変異花率 (%) ^x
日野川	52	6.07 ± 0.12 ^w	1.95 ± 0.10	1.65 ± 0.06	1.37 ± 0.04	2.92 ± 0.07	0.89 ± 0.02	0.31 ± 0.01	12.7
斐伊川	60	6.42 ± 0.10	2.52 ± 0.07	1.68 ± 0.06	1.18 ± 0.03	3.00 ± 0.10	0.89 ± 0.04	0.30 ± 0.01	10.0
江の川	59	6.30 ± 0.11	2.61 ± 0.07	1.52 ± 0.06	1.45 ± 0.04	2.56 ± 0.06	0.84 ± 0.02	0.33 ± 0.01	15.3
浜田川	19	6.29 ± 0.14	1.93 ± 0.16	1.42 ± 0.12	1.82 ± 0.08	3.93 ± 0.12	1.17 ± 0.04	0.30 ± 0.01	0
周布川	25	5.88 ± 0.16	2.81 ± 0.08	1.20 ± 0.08	1.63 ± 0.05	3.13 ± 0.14	0.96 ± 0.04	0.31 ± 0.01	0
高津川	73	6.18 ± 0.10	2.66 ± 0.07	1.31 ± 0.06	1.73 ± 0.03	2.85 ± 0.08	0.86 ± 0.03	0.31 ± 0.01	6.8
四万十川	29	—	—	—	1.05 ± 0.52	4.13 ± 0.13	1.20 ± 0.04	0.29 ± 0.01	—
仁淀川	25	5.08 ± 0.21	1.24 ± 0.19	1.25 ± 0.13	1.48 ± 0.04	3.62 ± 0.16	0.99 ± 0.05	0.27 ± 0.01	0
吉野川	33	5.20 ± 0.14	1.58 ± 0.12	1.46 ± 0.11	1.28 ± 0.04	3.36 ± 0.13	0.89 ± 0.04	0.27 ± 0.01	4.8

^zプロッチの濃さの程度（無：0，微：1，中：2，強：3）

^y花の香りの強さの程度（無：0，微：1，弱：2，中：3）

^x各集団中に観察された花器形態（花冠裂片数，雄ずい数）変異を示した個体の割合

^w平均値 ± SE



第2図 山陰および四国地域の各河川におけるキシツツジ集団における花色の頻度分布

第3表 山陰および四国地域の各河川のキシツツジの形態形質について主成分分析を行った際の第4主成分までの固有値、寄与率および固有ベクトル

	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4
固有値	2.50	1.08	1.04	0.98
寄与率 (%)	35.75	15.49	14.91	14.04
累積 (%)	35.75	51.24	66.15	80.19
	固有ベクトル 1	固有ベクトル 2	固有ベクトル 3	固有ベクトル 4
葉幅	0.5902	0.0376	0.1320	-0.2141
葉長	0.4354	0.5387	0.1866	-0.3087
花冠径	0.4294	0.1343	-0.1343	0.2488
葉幅/葉長	0.4187	-0.4992	-0.0027	-0.0148
ブロッチ	0.2884	-0.2884	-0.6552	0.2294
がく片長	0.1382	-0.1091	0.6094	0.7212
花色	-0.0121	0.5883	-0.3591	0.4733

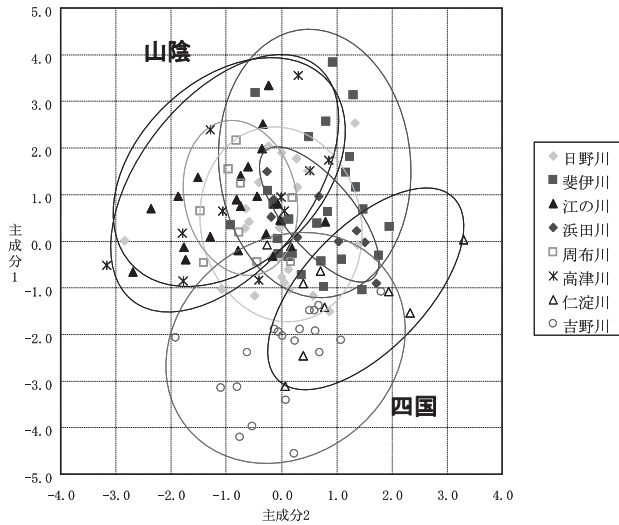
体間での花色の多様性がみられた。

なお、花色の濃淡、花冠径の大小、花冠裂片先端の形および6裂片花等の花器形態に関しては、遠山(1971)の報告と同程度の変異が本研究の現地調査においても発見されていることから、各集団の形態的変異のレベルについては維持されていることが窺えた。

3. 形態調査結果を用いた主成分分析

形態調査データをもとに行なった主成分分析の結果を第3表に示した。第1主成分の固有値は2.50、寄与率は35.75%で、その固有ベクトルは花色を除く6項目が正の相関を示し、なかでも葉幅が0.59と最も高い値を示した。第2主成

分の固有値は1.08、寄与率は15.49%で、固有ベクトルは葉幅、葉長、花冠径、花色が正の相関を、残りの葉幅/葉長、ブロッチ、がく片長が負の相関を示した。第1および第2主成分の累積寄与率は51.24%で、これらを用いて作成した主成分得点散布図を第3図に示した。この得点散布図をみると、第1主成分の0値以上に山陰地域の河川集団が重なって分布し、0値以下に四国地域の河川集団が分布する一方、山陰地域の集団は第2主成分によって、高津川や浜田川の島根県西部の河川集団は負側に、日野川、斐伊川の東部河川集団は正側に分布の中心を持つ傾向がみられた。また、各河川集団単位でもまとまった分布をしている傾向がみら



第3図 山陰および四国地域の各河川におけるキシツツジの形態形質について主成分分析を行った際の主成分得点散布図

れた。これらの分布を示した要因を第3表の第1および第2主成分の固有ベクトルから推定すると第3図の左上および右下方向の分離には葉幅/葉長の値が大きく関与しており、主に左上に分布する山陰地域には葉幅の広い個体が多く、一方四国地域には葉幅の狭い個体が多いこと、また、第1主成分の上方向には花冠径や葉幅の大きい個体が、さらに右上方向には葉長の広い個体が配置されていることがわかる。これらの結果は山陰地域のキシツツジは四国地域のものに比べて、花冠径が大きい、葉が幅広いなどの形態調査の結果(第2表)を裏付けるといえよう。

小林ら(2003)は、九州霧島山系の野生ツツジ集団について形態調査で得られたデータを多変量解析により客観的に評価し、葉緑体DNA分析の結果と合わせて、ミヤマキリシマ、ヤマツツジおよびそれらの自然雑種が標高別に分布する集団の構造について明確に示している。今回のキシツツジ種内の形態調査結果を用いた主成分分析では、地域ならびに河川集団単位でまとまる傾向がみられ、これは地域ならびに河川集団単位での花器や葉の形態的特長を示唆するものである。今後は、他の分布域のキシツツジ集団や近縁のモチツツジ集団等を加えて調査し、総合的に評価することで、明確な形態的特長とその分布の傾向が得られるであろう。

2. 葉緑体DNA変異

葉緑体DNA上の全3領域において、予想サイズのDNA断片が増幅され、これらの領域についてPCR-SSCP分析を行ったところ、このうちtrnW-trnP領域のみに山陰と四国地域の個体間で多型が得られ、残りの2領域では多型は認められなかった。

多型を検出したtrnW-trnP領域(296bp)について個体間の塩基配列を比較すると、四国地域を代表する個体は75塩



第4図 山陰および四国地域の各河川のキシツツジにおける葉緑体DNA trnW-trnP領域の多型が得られた塩基配列とその差異
上段: AT型, 下段: TA型, *は同一塩基, 点線枠内はATの反復領域, 実線枠内は差異

第4表 山陰および四国地域の各河川のキシツツジ集団における葉緑体DNA trnW-trnP領域の多型分析結果

	河川名	TA型	AT型
山陰	日野川	5	2
	斐伊川	6	0
	江の川	3	2
	浜田川	3	1
	周布川	6	0
	高津川	7	0
	山陰地域小計	30	5
四国	四万十川	2	3
	仁淀川	5	1
	吉野川	2	4
	四国地域小計	9	8
合計		39	13

基目から始まるATの7回の反復配列(AT型)を持つ。一方、山陰地域を代表する個体ではATの反復配列の7番目が逆位のTAとなること(TA型)が分かった(第4図)。

各集団の他個体について塩基配列決定を行ったところ、山陰地域の河川集団ではTA型が多く出現する傾向を示し、特に斐伊川、周布川、高津川の集団は分析個体のすべてがTA型であった。また、四国地域の3河川の集団ではTA型とAT型が混在する傾向がみられた(第4表)。

PCR-SSCP分析の変異検出の感度は非常に高く、PCR産物中の1塩基の差異も検出出来るとされている(綿野, 2001)。今回得られたtrnW-trnP領域の2塩基配列の差異はキシツツジの分布の地域性を示唆するものであると考えられる。キシツツジの分布は香川地方を除く四国全域と中国地方では岡山の旭川と鳥取の日野川を結ぶライン以西に分布し、九州では大分の山国川にわずかに自生がみられるのみである。この限られた範囲に自生するキシツツジについて富樫(2005)は、キシツツジの発生地は分布量と広がり濃密であることから土佐と考えられ、その後西方から中国地方に分布したのではないかと仮説を立てている。本研

究の結果において、四国地域のキシツツジ集団でTA型とAT型が混在し遺伝的多様性を示したことはこの仮説を支持するものである。また、主に河川によって種子が移動し、分布を広げるキシツツジにおいては、河川集団間の遺伝的差異を検出できるようなDNAマーカーを用いて、分布河川全域の個体を分析することにより、キシツツジ全体の遺伝的多様性や種分化の過程がより明らかになると考えられる。さらには、江戸時代に発達したリュウキュウツツジをはじめとする園芸品種の起源解明にも重要な情報を提供するであろう。

本研究の結果から、山陰地域の島根県および鳥取県の河川に自生するキシツツジは四国地域の自生集団に比べて、花冠が大きい、葉幅が広い等などの形態的特徴を持つ傾向が明らかになった。また、花卉遺伝資源として重要な評価項目である花器形質は河川集団によって変異の傾向があること、また、集団の中で花色やブロッヂの変異、雄ずいの花弁化等の園芸的に有用な変異がみられることが明らかになった。キシツツジを育種素材として活用する際には、これらの形質変異を踏まえることにより、より効率的な育種が出来ると考えられる。同時に、山陰地域ではこれらの花卉遺伝資源を有する自生地とその環境保護の必要性が示唆される。

摘 要

キシツツジ (*R. ripense* Makino) について花卉遺伝資源として育種活用する目的で、山陰地域の河川の自生集団を中心に四国地域もあわせて、自生地調査と形態形質の分析ならびに葉緑体DNAの解析を行ない、遺伝的多様性を評価した。山陰地域のキシツツジ自生地調査では約40年前の調査時に比べて、ダム建設や護岸工事等により自生環境の破壊による自生集団の減少傾向がみられ、自生地保護の必要性が示唆された。形態学的形質について山陰地域に自生するキシツツジの花冠径は約6cmで、花冠のブロッヂの濃さやがく片長について地域や河川集団における遺伝的多様性がみられた。また、山陰地域に自生するキシツツジ集団は四国地域に自生するものに比べて花冠径が大きい、ブロッヂが濃い、葉が幅広いという形態的差異がみられた。主成分分析の結果では第1および第2主成分にはこれらの花器や葉の形質(花冠径、ブロッヂの程度、がく片長および葉幅/葉長)が大きく関与し、その得点散布図では山陰中部の河川の集団が重なって分布するのに対し、山陰西部や四国の河川の集団はそれらの中心をやや離れて位置する傾向がみられた。葉緑体DNA上の *trnW-trnP* 遺伝子間領域にお

いて、地域変異性を示唆する塩基配列の差異がみられた。山陰地域の集団ではTA型が多く出現する傾向を示したが、四国地域ではTA型とAT型が混在していた。

引用文献

- 伊延敏行. 1971. ムラサキリュウキュウツツジの自生に関する一考察. 植物研究雑誌. 46: 311–315.
- Kobayashi, N., T. Horikoshi, H. Katsuyama, T. Handa and K. Takayanagi. 1998. A simple and efficient DNA extraction method for plants, especially woody plants. *Plant Tissue Cult. Biotech.* 4: 76–79.
- 小林伸雄・森中洋一・半田 高・高柳謙治・有隅健一. 2003. 形態形質の多変量解析と葉緑体DNA比較による霧島山系野生ツツジ集団の構造解析. 園学研. 2: 265–268.
- 国重正昭. 1976. キシツツジ. p. 101–102. ガーデンライフ編. ツツジ その種類と栽培. 誠文堂新光社. 東京.
- Nishizawa, T. and Y. Watano. 2000. Primer pairs suitable for PCR-SSCP analysis of chloroplast DNA in angiosperms. *J. Phytogeogr. Taxon.* 48: 63–66.
- 清水誠一・遠山正瑛. 1967. 鳥取、島根両県に分布するキシツツジについて. 園学中四国支部要旨. 昭42: 416–417.
- 清水誠一・遠山正瑛. 1970a. 島根県西部周布川および高津川に自生するキシツツジの分布と集積植栽地について. 園学中四国支部要旨. 昭45: 416–417.
- 清水誠一・遠山正瑛. 1970b. 中国山地水系に分布するキシツツジの変異について. 園学要旨. 昭45秋: 218–219.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou and J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol. Biol.* 17: 1105–1109.
- 富樫 誠. 2005. キシツツジ. p. 175–177. 増補原色日本産ツツジ・シャクナゲ大図譜. 誠文堂新光社. 東京.
- 遠山正瑛. 1971. キシツツジの自生分布と変異について. 新花卉. 71: 45–51.
- 綿野泰行. 2001. 2–6. SSCP分析法. p. 263–274. 種生物学会編. 森の分子生物学. 文一総合出版. 東京.
- 山口 聡・大橋広明・上堂秀一郎. 1996. 愛媛ツツジの開発(第二報)愛媛県内産フジツツジおよびキシツツジの自生変異と有望系統. 園学雑. 65(別2): 494–495.
- Yamazaki, T. 1996. *Rhododendron ripense* Makino. p. 43–44. In: Y. Kadota (ed.). A revision of the genus *Rhododendron* in Japan, Taiwan, Korea, and Sakhalin. Tsumura Laboratory, Tokyo.