

絶滅危惧植物カワラノギクの遺伝的変異に関する研究

1. はじめに
2. カワラノギクの遺伝的様式
3. 集団の遺伝的変異
4. 集団構造と遺伝子流動
5. 遺伝的変異からみたカワラノギクの保全対策
6. 引用文献

東京大学教養学部 矢原徹一
(現九州大学理学部)
福岡教育大学生物学教室 牧雅之

1. はじめに

カワラノギク (*Aster kantoensis* Kitamura) は、関東・中部地方の比較的大きな河川の河原に分布する1回繁殖型の多年生草本である。この植物は、「我が国における保護上重要な植物」(通称、レッドデータブック)には、「危険(vulnerable)」種として、リストアップされている。レッドデータブックでは、この植物が分布する河川として、安倍川、多摩川、鬼怒川、相模川の4河川があげられている。

カワラノギクは、河川の氾濫によって作られた、新しい空き地にいち早く侵入し、多くの種子を生産して、しばしば大集団を形成する。しかし、この大集団は長い時間維持されることはない。時間が経つに連れて、カワラノギクよりも競争力の上で勝る多年生草本や低木が侵入してくる。カワラノギクは、他の植物の下では、成長が押さえられ、種子を生産することができない。遷移が進むと、いずれその集団は絶滅することになる(倉本, 1995)。

稀少植物の集団における遺伝的変異の量は、保全生物学の研究者には、特に注目されてきた。一般に、遺伝的変異が減少すると、環境の変化に対する適応力が低下して、その生物は絶滅しやすくなると考えられてきたためである(Beardmore, 1983)。一般に、稀少植物種は、近縁な普通種に比べて遺伝的変異が少ないことがこれまでの研究によって知られている(Karron, 1987)。

集団に維持される遺伝的変異は、「集団の有効なサイズ(effective population size)」に大きく左右される。この集団の有効なサイズと実際に集団に存在する個体数(実際の集団サイズ)は一致しないことが知られている(Hartl and Clark, 1989)。これまでに、いくつかの稀少植物種において調べられた限りでは、実際の集団サイズと遺伝的変異(酵素多型変異で調べられていることが多い)には相関があり、集団の有効なサイズと実際の集団サイズは一致しないにせよ、比例関係にあることと推定されている(Moran and Hopper, 1983; Billington, 1991; Van Treuren et al, 1991)。しかしながら、これらの研究は主に安定した環境に生育する多年生草本や樹木を対象としたものであり、氾濫が頻繁に起こる河川の河原のような不安定な環境に生育する、短命な植物においても同様な相関が見られるかどうかは明らかではない。

また、集団に維持される遺伝的変異は、集団の有効サイズだけでなく、集団間の遺伝子流動によっても強い影響を受ける。これまでの理論的な研究により、集団間の遺伝子流動が多ければ、各集団に維持される遺伝的変異は大きくなることが知られている(Lacy, 1987)。このような、遺伝子流動の推定には酵素多型マーカーがきわめて有効である。なぜならば、多数の個体の遺伝子型を比較的容易に決定することが可能であり、この遺伝子型のデータを用いて、集団間の遺伝子流動の量を推定する方法が確立されているからである。これまでに、多くの植物種において、集団間の遺伝子流動について推定したデータがある(Hamrick and Godt, 1990)。しかしながら、これらの多くは、種内集団間に構造がないとして、計算を行っている。実際には、カワラノギクのように、特定の河川流域にのみ生育し、流域内の遺伝子流動は流域間の遺伝子流動に比べて大きくなりやすい。このような場合に、集団全体をひとま

とめにして、遺伝子流動を推定すると、実際の遺伝子流動よりも過小評価してしまう可能性がある。これまでのところ、このように種内集団構造を考慮して、遺伝子流動を推定した例は、植物ではきわめて稀である。

さらに集団に維持される遺伝的変異を決定する要因として、特に倍数体の生物の場合には遺伝子の遺伝様式がある。一般に、異質4倍体の場合には、1遺伝子座における遺伝様式は2倍体と同じであることが知られている。しかし、同質4倍体の場合には、遺伝様式が4数性と呼ばれる特殊な遺伝様式をすることが知られている。このような4数性遺伝をする場合には、集団に維持される遺伝的変異が2倍体の場合と異なることが知られている（Mayo, 1971; Moody et al, 1983）。カワラノギクは $2n=36$ の4倍体であることがこれまでの細胞遺伝学的研究から知られている（副島、私信）。

本研究では、絶滅危惧種であるカワラノギクの遺伝的変異が、どの程度あるのか、また、どのような要因によって維持されているのかを明らかにするために、遺伝様式の推定、集団に維持されている遺伝的変異の量、集団間の遺伝子流動を酵素多型を用いて調べることを目的とする。

2. カワラノギクの遺伝的様式

カワラノギクは $2n=36$ の4倍体である。予備的な実験により、カワラノギクでは異質4倍体に特有な固定ヘテロ接合（fixed heterozygosity）が見られないため、4数性遺伝をする同質4倍体である可能性が示唆された。そこで、これを実証するために、交配実験を行い、マーカー遺伝子座における対立遺伝子の分離実験を行った。

【方 法】

4数性遺伝をする場合には、酵素多型の表現型において、非対称なヘテロ接合体が観察される。4数性遺伝をする場合には、ヘテロ接合体には3通りの場合がある。ある遺伝子座について、2つの対立遺伝子a、bがある場合、ホモ接合体はaaaa、bbbbの2通りの遺伝子型が存在し、ヘテロ接合体にはaaab、aabb、abbbの3通りの遺伝子型が存在する。酵素多型の表現型において、これら5通りの遺伝子型は区別が可能である。Fig. 1に、酵素が单量体の場合と、2量体の場合の表現型と遺伝子型の対応関係を示す。

このように、非対称なヘテロ接合体が見られる場合には、4数性遺伝をしている可能性が高いが、1つの遺伝子座が一方の対立遺伝子に固定していて、もう一つの遺伝子座が変異をしているという、特殊な固定ヘテロ接合体の可能性も否定できない。そこで、あらかじめ遺伝子型を推定した親同士をかけあわせて、後代の分離比をみた。

もし、4数性遺伝をしているならば、親の遺伝子型がaabbである場合には、配偶子はaa:ab:bbが1:4:1の比に分離するが、固定ヘテロ接合を起こしている場合には2数性遺伝をするので、配偶子はaa:ab:bbが1:2:1の比に分離する。そこで、aabbの遺伝子型をもつ個体とaaaaもしくはbbbbの個

体を交配して、後代の分離をみた。

開花前にロゼットを少数、野外集団から採集して、温室で栽培を行った。サンプリングを行った集団は日光市、今市市、塩谷町、青梅市、秋川市、日野市、府中市の集団で、fig. 2 のそれぞれ、K 1、K 3、K 6、T 1、T 2、T 5、T 6 にあたる。開花する前に、酵素多型遺伝子座における遺伝子型を決定した。特に変異がみられたAat-2、Aco-2、Pgi-2、6 pg-2 の4 遺伝子座を対象とした（実験方法については、3 の「集団の遺伝的変異」の項で説明する）。前述のような、特定の遺伝子型をもった個体について、開花後、花粉を綿棒をつかって薬包紙にとり、これを目的の個体の頭花につけることにより交配を行った。なお、温室内には、花粉を媒介する動物が入ることのないように注意した。

結実後、種子を採取し、ピートモスの苗床に播種して、20°Cの恒温槽において発芽させた。発芽後、約3週間経過したところで、後代の酵素多型における遺伝子型を決定した。分離比の検定は、2数性遺伝をしている場合と4数性遺伝をしている場合について期待値を求め、観察値との間のカイ2乗値を計算し、検定を行った。

【結果と考察】

分離実験の結果をtable 1に示す。遺伝子型aabbと遺伝子型aaaaの交配では、後代において、固定ヘテロ接合を起こしている場合（つまり2数性遺伝をしている場合）には、aabb:aaab:aaaaが1:2:1に分離することが期待され、4数性遺伝をする場合にはaabb:aaab:aaaaが1:4:1に分離することが期待される。table1の結果から、いずれの遺伝子座のいずれの交配においても、2数性遺伝の仮説は5%水準で棄却された。一方、4数性遺伝の仮説は、棄却されなかった。このことは、カワラノギクが4数性遺伝を行っている、同質4倍体であることを意味する。

同質4倍体は、近年まで野生植物では稀な現象であると考えられてきた。倍数化が頻繁に観察されているキク科においても、これまで同質4倍体性である可能性が指摘されている例は2種においてあるだけである。しかしながら、近年、4数性遺伝をしていることが確認された植物種は増加しつつあり、以前に考えられていたほど、同質4倍体化は稀な現象ではないと考えられる。

同質4倍体性の場合、遺伝的変異は、2倍体性遺伝する植物に比べて遺伝的変異が維持されやすいといわれており、カワラノギクとこれまで調べられてきた多くの2倍体性の植物との間では単純に遺伝的変異の量を比較することはできないことになる。カワラノギクの遺伝的変異が多いか少ないかは、同様の遺伝様式をもつ、同質4倍体性の植物との間で比較する必要があると考えられる。

3. 集団の遺伝的変異

カワラノギクの集団における遺伝的変異がどの程度あるのかを酵素多型を用いて推定した。特に、実際の集団サイズと維持されている遺伝的変異の間に相関があるかどうか、また、カワラノギクの種としての遺伝的変異が他の同質4倍体性の植物と比べて、小さいのかどうかを検討した。

【方 法】

多摩川流域から7集団、相模川流域から2集団、鬼怒川流域から8集団をサンプリングした (fig. 2)。各集団の略号、算定した実際の集団のサイズ、および1遺伝子座当たりのサンプル数を表2に示した。なお、レッドデータブックによれば、安倍川流域にもカワラノギクが分布することになっているが、本研究中に、流域全体にわたって精査したが、生育を確認することができなかった。

各集団のロゼット時の個体から、葉片を一部採取し、氷中に保存して実験室に持ち帰った。サンプルは電気泳動を行うまでの数日間の間、冷蔵庫内に保存した。また、結実期に頭花の一部の種子を採取し、2と同様にして発芽させ、一部の酵素多型の検出に用いた。

解析に用いた酵素は、6-フォスフォグルコン酸脱水素酵素 (6PG)、シキミ酸脱水素酵素 (SKDH)、アコニターゼ (ACO)、アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (AAT)、酸性フォスファターゼ (ACP)、フォスフォグルコースイソメラーゼ (PGI)、メナジオン還元酵素 (MNR)、イソクエン酸脱水素酵素 (IDH)、トリオースリン酸イソメラーゼ (TPI)、フォスフォグルコムターゼ (PGM)、リンゴ酸酵素 (ME)、リンゴ酸脱水素酵素 (MDH)、[NADP] グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 ([NADP] G3PDH)、グリセリン酸脱水素酵素 (G2DH) およびアルコール脱水素酵素 (ADH) の15酵素である。

サンプルは、抽出緩衝液中 (Odrzykoski and Gottlieb, 1983) で乳鉢と乳棒を用いてすり潰し、マイクロチューブに移した後、15,000rpmで10分間遠心し、上澄みを酵素粗抽出液として用いた。

電気泳動は2通りの方法を用いた。AATについては、平板ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いた (Shiraishi, 1988)。残りの酵素値については、デンプンゲル電気泳動を用いた。PGI、TPIについては、Soltisら (1983) の8番の緩衝液系を、それ以外の酵素についてはSoltisら (1983) の2番の緩衝液系を用いた。6PGDH、ACO、ADHについては、芽生えを、それ以外の酵素は、ロゼット葉をサンプルとして用いた。

電気泳動終了後、活性染色を行った。MNRとADHはWendelとWeeden (1989) の方法を、[NADP] G3PDHについては、Riesebergら (1987) の方法を、G2DHについては、CheliakとPitel (1987) の方法を、それ以外の酵素種については、Soltisら (1983) の方法を用いて、染色を行った。

遺伝子型の決定は、各バンドの相対的な濃さを用いて行った。この遺伝子型のデータをもとに、各集団ごとに、遺伝的変異量を表すパラメータとして、1遺伝子座当たりの対立遺伝子数 (A)、多型遺伝子座の割合 (P)、遺伝子多様度 (h) を計算した。また、カワラノギクの種としての、あるいは流域全体の遺伝子多様度 (H_T) も計算した。

【結果と考察】

15酵素種について、合計22の遺伝子座を検出した。このうち、Aat-1、Acp-1、Pgi-1、Tpi-2、Idh、Pgm、Me、Mdh、[NADP] G3pdhおよびG2dhの10遺伝子座は単型であり、他の遺伝子座は少なくとも一つの集団で複数の対立遺伝子が観察された。

Table 3に各集団の、遺伝的変異量を表すパラメータをまとめた。これらのパラメータと実際の集団

のサイズとの間には相関がみられなかった (Fig.3)。これには、カワラノギクの集団の動態が影響しているものと考えられる。カワラノギクは、河川氾濫後の空き地に定着後、急速に集団サイズを大きくするが、その後、遷移に伴って、集団サイズは急激に減少する。したがって、現在大きいサイズをもつ集団も、近年少数個体から由来している可能性が高い。このような場合には、創始者効果により、たとえ実際の集団サイズは大きくても、その集団が維持する遺伝的変異は小さくなる傾向がある。したがって、大きな集団でも小さな集団でも同様な遺伝的変異量を示すことが起こりうる。

Table 4 に他の 4 数性遺伝をする植物の集団及び種レベルの遺伝的変異量とカワラノギクの集団及び種レベルの遺伝的変異量をまとめた。カワラノギクの各集団当たりの遺伝的変異量は他の種とあまり違ひがないが、種レベルでは、*Turnera ulmifolia* var.*intermedia*を除けば、非常に低い値を示した。この結果から、カワラノギクが比較的近年に同質 4 倍体化を起こしたため、ビン首効果を受けた可能性が示唆される。*Turnera ulmifolia* var.*intermedia*は島嶼性の植物で、この植物では移住の際のビン首効果が指摘されている。

4. 集団構造と遺伝子流動

集団間の遺伝子流動も集団の遺伝的変異量を決定する大きな要因の一つである。カワラノギクの場合には、河川流域に分布が限られるので、集団に階層性があり、注意が必要である。本研究では集団の階層性を考慮して、解析を行った。

【方 法】

3 で得られた集団ごとの対立遺伝子頻度をもとにして、河川流域ごとの集団の分化指数GST (Nei, 1987) を計算した。標準誤差はジャックナイフ法を用いて計算し、有意性検定はt-検定を行った (Weir and Cockerham, 1984; McCauley et al, 1988)。また、流域ごとに集団および流域レベルの遺伝的変異量を 3 と同様に計算した。さらに、各集団のすべてのペアについて、遺伝的同一度 (I) と遺伝的距離 (D) を計算し (Nei, 1987)、この D をもとに近隣結合法 (Saitou and Nei, 1987) を用いて、集団の遺伝的類似図を作成した。

【結果と考察】

流域ごとの集団分化指数をTable 5 に示した。鬼怒川流域における集団分化指数が他の 2 流域に比較して低く、集団間の遺伝子流動が大きいことが示唆された。一方、多摩川においては、集団分化指数が非常に高かった。これは、支流である北浅川の集団 (T 7) が、他の多摩川集団から隔離されて遺伝的にかなり分化していることためかもしれない。この集団を除くと、多摩川における集団分化指数は低くなった。

流域ごとの集団レベルの遺伝的変異は、多型遺伝子座の割合を除けば有意な差は認められなかった

(Table 6)。しかし、流域レベルでの遺伝的変異は多摩川が最も大きかった。これは、前述の通り、北浅川の集団を含めたためと考えられる。

遺伝的同一度は、各流域内では非常に高い値を示した。一方、流域間での集団の遺伝的同一度は、多摩・相模間が、鬼怒と多摩および相模間よりも大きな値を示した (Table 7)。これは、多摩と相模が地理的に近いためと考えられる。集団の遺伝的類似図をみると、鬼怒川の集団は一つのクラスターを作り、まとまっているが、相模川と多摩川の集団は別々のクラスターを作らなかった (fig. 4)。これは、現在でもこの 2 つの河川間で遺伝子流動がおきているか、あるいは過去の比較的近い時期に遺伝子流動が起きたかのどちらかであると考えられる。

5. 遺伝的変異からみたカワラノギクの保全対策

実際の集団と維持される遺伝的変異量が一致する植物では、大きな集団をできるだけ残した方がよいとされる。しかしながら、カワラノギクの場合には、大きな集団が必ずしも多くの遺伝的変異量を維持しているとはいえない。さらに、大きな集団をそのまま維持することも困難であると考えられる。このような場合には、集団の成立の機会を失わせないことが重要であると考えられる。そのひとつの手段として、人工的に河川の氾濫と同様の攪乱を起こし、そこに近くから採取した種子を播種するなどの方法を考えられる。

流域間で遺伝的分化がある程度存在するので、別の流域から種子を採取して、播種するのは、一種の遺伝子汚染になるので、好ましいことではないと考えられる。

6. 引用文献

- BEARDMORE, J. A. 1983. Extinction, survival, and genetic variation. In: Schonewald-Cox, C. M., Chambers, S. M., MacBryde, B. and Thomas, W. L. (eds.) Genetics and Conservation, pp. 125-151. Benjamin/Cummings, Menlo Park.
- BILLINGTON, H. L. 1991. Effect of population size on genetic variation in a dioecious conifer. Conserv. Biol., 5, 115-119.
- CHELIAK, W. M. AND PITEL, J. A. 1984. Techniques for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Forest Tree Species. Information report PI-X-42. Pentawana National Forestry Institute.
- HAMRICK, J. L. AND GODT, M. J. 1990. Allozyme diversity in plant species. In: Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. and Weir, B. S. (eds.) Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources, pp. 43-63. Sinauer, Sunderland.
- HARTL, D. L. AND CLARK, A. G. 1989. Principles of Population Genetics, 2nd edn. Sinauer,

Sunderland.

- KARRON, J. D. 1987. A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. *Evol. Ecol.*, 1, 47-58.
- 倉本 宣. 1995. 多摩川におけるカワラノギクの保全生物学的研究
- MAYO, O. 1971. Rates of change in gene frequency in tetrasomic organisms. *Genetica*, 42, 329-337.
- McCAULEY, D. E., WADE, M. J., BREDEN, F. J. AND WOHLTMAN, M. 1988. Spatial and temporal variation in group relatedness: Evidence from the imported willow leaf beetle. *Evolution*, 42, 184-192.
- MOODY, M. E., MUELLER, L. D. AND SOLTIS, D. E. 1993. Genetic variation and random drift in autotetraploid populations. *Genetics*, 134, 649-657.
- MORAN, G. F. AND HOPPER, S. D. 1983. Genetic diversity and the insular population structure of the rare granite rock species, *Eucalyptus caesia* Benth. *Aust. J. Bot.*, 31, 161-172.
- NEI, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- ODRZYKOSKI, I. J. AND GOTTLIEB, L. D. 1984. Duplications of genes coding 6-phosphogluconate dehydrogenase in *Clarkia* (Onagraceae) and their phylogenetic implications. *Syst. Bot.*, 9, 479-486.
- RIESEBERG, L. H., PETERSON, P. M., SOLTIS, D. E. AND ANNABLE, C. R. 1987. Genetic divergence and isozyme number variation among four varieties of *Allium douglasii* (Alliaceae). *Amer. J. Bot.*, 74, 1614-1624.
- SAITOU, N. AND NEI, M. 1987. The neighbour joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4, 406-425.
- SHIRAI SHI, S. 1988. Inheritance of isozyme variations in Japanese black pine, *Pinus thunbergii* Parl. *SilvaeGenet.*, 37, 93-99.
- SHORE, J. S. 1991. Tetrasomic inheritance and isozyme variation in *Trunera ulmifolia* vars. *elegans* Urb. and *intermedia* Urb. (Turuneraeae). *Heredity*, 66, 305-312.
- SOLTIS, D. E., HAUFLER, C. H., DARROW, D. C. AND GASTONY, G. J. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffer, and staining schedules. *Am. Fern J.* 73, 9-27.
- SOLTIS, D. E. AND SOLTIS, P. S. 1989. Genetic consequences of autotetraploidy in *Tolmiea* (Saxifragaceae). *Evolution*, 43, 586-594.
- VAN TREUREN, R., BIJLSMA, R., VAN DELDEN, W. AND OUBORG, N. J. 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in

- Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. Heredity, 66, 181-190.
- WEIR, B. S. AND COCKERHAM, C. C. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38, 1358-1370.
- WENDEL, J. F. AND WEEDEN, N. F. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. In:Soltis, D. E. and Soltis, P. S. (eds.) Isozymes in Plant Biology, pp. 5-45. DioscoridesPress, Portland.
- WOLF, P. G., SOLTIS, D. E. AND SOLTIS, P. S. 1990. Chroloplast-DNA and electrophoretic variation in diploid and autotetraploid *Heuchera grossularifolia*. Am. J. Bot. 77, 232-244.

Table 1. Segregation of genotypes for each locus and goodness of fit to expected ratios.

Locus	Parents	Progeny genotypes	Segregation	Expected ratio (tetrasomic)	χ^2	P	Expected ratio (disomic)	χ^2	P
		(genotypes)							
<u>6pg-2</u>	K1-6 x K6-1	<u>aabb</u>	10	1			1		
	(aab <u>b</u>) x (<u>bbb</u> b)	<u>abbb</u>	46	4			2		
		<u>bbbb</u>	19	1	4.20	N.S.	1	6.01	<0.05
	K1-4 x K1-10	<u>aaaa</u>	16	1			1		
	(aaa <u>a</u>) x (<u>aab</u> b)	<u>aaab</u>	39	4			2		
		<u>aabb</u>	8	1	3.69	N.S.	1	6.11	<0.05
	T2-1 x T6-2	<u>aabb</u>	11	1			1		
	(aab <u>b</u>) x (<u>bbb</u> b)	<u>abbb</u>	39	4			2		
		<u>bbbb</u>	9	1	0.90	N.S.	1	9.80	<0.05
<u>Aco-2</u>	K1-6 x K6-7	<u>aaaa</u>	14	1			1		
	(aab <u>b</u>) x (<u>aaa</u> a)	<u>aaab</u>	69	4			2		
		<u>aabb</u>	19	1	0.78	N.S.	1	13.20	<0.005
	K1-2 x K1-1	<u>aaaa</u>	12	1			1		
	(aaa <u>a</u>) x (<u>aab</u> b)	<u>aaab</u>	39	4			2		
		<u>aabb</u>	9	1	0.53	N.S.	1	5.70	<0.05
<u>Pgi-2</u>	T5-2 x K3-1	<u>aabb</u>	9	1			1		
	(aab <u>b</u>) x (<u>bbb</u> b)	<u>abbb</u>	45	4			2		
		<u>bbbb</u>	10	1	0.42	N.S.	1	10.59	<0.01
	T5-3 x T5-11	<u>aabb</u>	19	1			1		
	(aab <u>b</u>) x (<u>bbb</u> b)	<u>abbb</u>	83	4			2		
		<u>bbbb</u>	17	1	0.61	N.S.	1	18.62	<0.001
<u>Aat-2</u>	T1-1 x T6-2	<u>aaaa</u>	6	1			1		
	(aaa <u>a</u>) x (<u>aab</u> b)	<u>aaab</u>	33	4			2		
		<u>aabb</u>	6	1	0.90	N.S.	1	9.80	<0.01
	T1-1 x T1-3	<u>aaaa</u>	15	1			1		
	(aaa <u>a</u>) x (<u>aab</u> b)	<u>aaab</u>	62	4			2		
		<u>aabb</u>	16	1	0.03	N.S.	1	10.36	<0.01

Table 2 . Population code, river system,estimated population size, and mean sample size per locus of the populations examined.

Population code	River system	Population size	Sample size
S1	Sagami	2000	37.9
S2	Sagami	45	37.5
T1	Tama	150 †	38.1
T2	Tama	37800 †	38.5
T3	Tama	190 †	37.1
T4	Tama	60	39.1
T5	Tama	6700 †	38.0
T6	Tama	10000 ††	37.5
T7	Tama	30	20.0
K1	Kinu	1800	38.2
K2	Kinu	60	31.7
K3	Kinu	350	36.2
K4	Kinu	4000	38.0
K5	Kinu	80	34.9
K6	Kinu	1100	36.6
K7	Kinu	220	38.3
K8	Kinu	16	14.6

† Kuramoto (1994)

†† N. Kuramoto (Unpublished data)

Table 3 . Genetic variation at 22 loci for 17 populations of Aster kantoensis. A =mean alleles per locus; P =percentage polymorphic loci; h =gene diversity.

Population	A	P	h
S1	1.591	36.4	0.139
S2	1.545	40.9	0.139
T1	1.682	45.5	0.164
T2	1.545	40.9	0.151
T3	1.591	45.5	0.189
T4	1.545	36.4	0.138
T5	1.545	40.9	0.162
T6	1.455	36.4	0.122
T7	1.500	36.4	0.154
K1	1.545	36.4	0.151
K2	1.409	31.8	0.107
K3	1.545	36.4	0.139
K4	1.500	31.8	0.115
K5	1.545	36.4	0.169
K6	1.545	36.4	0.134
K7	1.500	31.8	0.123
K8	1.455	27.3	0.116

Table 4. Mean levels of isozyme variation within populations and total gene diversity of *Aster kantoensis* and other autotetraploid species. Values in parentheses indicate standard deviations.

Species	<i>A</i>	<i>P</i>	<i>h</i>	H_T
<i>A. kantoensis</i>	1.53 (0.06)	36.9 (4.8)	0.142 (0.021)	0.184
<i>Tolmiea menziesii</i> ⁽¹⁾	1.44 (0.58)	40.8 (7.1)	0.430 (0.050)	0.454
<i>Heucheramicrantha</i> ⁽²⁾	1.64 (0.24)	38.3 (13.2)	0.223 (0.055)	0.235
<i>Heuchera grossularifolia</i> ⁽³⁾	1.56 (0.28)	31.1 (15.4)	0.103 (0.056)	0.258
<i>Turnera ulmifolia</i>				
var. <i>intermedia</i> ⁽⁴⁾	1.18 (0.11)	19.9 (9.7)	0.037 (0.016)	0.05
var. <i>elegans</i> ⁽⁴⁾	2.01 (0.25)	65.1 (11.9)	0.269 (0.040)	0.34

⁽¹⁾ Soltis & Soltis (1989); ⁽²⁾ Ness et al. (1989); ⁽³⁾ Wolf et al. (1990); ⁽⁴⁾ Shore & Barrett (1991)

Table 5 . Jackknife estimates of differentiation among populations of *Aster kantoensis* within each river system (G_{PR}) and among river systems (G_{RT}). Standard errors and the significance of t-tests that test deviation of each value of G_{ST} from zero are also given.

Gene diversity statistic	G_{ST}	SE	Significance
G_{PR} (Sagami)	0.131	0.003	P<0.001
G_{PR} (Tama)	0.261	0.005	P<0.001
G_{PR} (Tama without T7)	0.141	0.001	P<0.001
G_{PR} (Kinu)	0.094	0.001	P<0.001
G_{RT}	0.145	0.001	P<0.001

Table 6 . Mean levels of isozyme variation and total gene diversity of each river system. Significance of genetic diversity values among river systems were tested by Kruskall-Wallis test. Values in parentheses indicate standard deviations.

River system	A	P	h	H_T
Sagami	1.57 (0.03)	38.6 (3.2)	0.139 (0.000)	0.160
Tama	1.55 (0.07)	40.3 (4.1)	0.154 (0.023)	0.210
Kinu	1.51 (0.05)	33.5 (3.4)	0.132 (0.021)	0.146
Significance	n.s.	P<0.05		n.s.

Table 7 . Nei's genetic identity (I) and distance (D) estimates within river systems and between river systems.

	I (Range)	D (Range)
Within river system		
Sagami	0.951 (-)	0.050 (-)
Tama	0.947 (0.894-0.988)	0.055 (0.012-0.112)
Kinu	0.982 (0.953-0.995)	0.018 (0.010-0.048)
Between river systems		
Sagami x Tama	0.947 (0.892-0.985)	0.054 (0.015-0.114)
Sagami x Kinu	0.914 (0.890-0.926)	0.090 (0.067-0.116)
Tama x Kinu	0.909 (0.864-0.943)	0.095 (0.058-0.146)

a.



b.



Fig. 1 . Phenotypes and genotypes in a tetrasomic allozymic locus.
a. monomeric enzyme, b. dimeric enzyme.

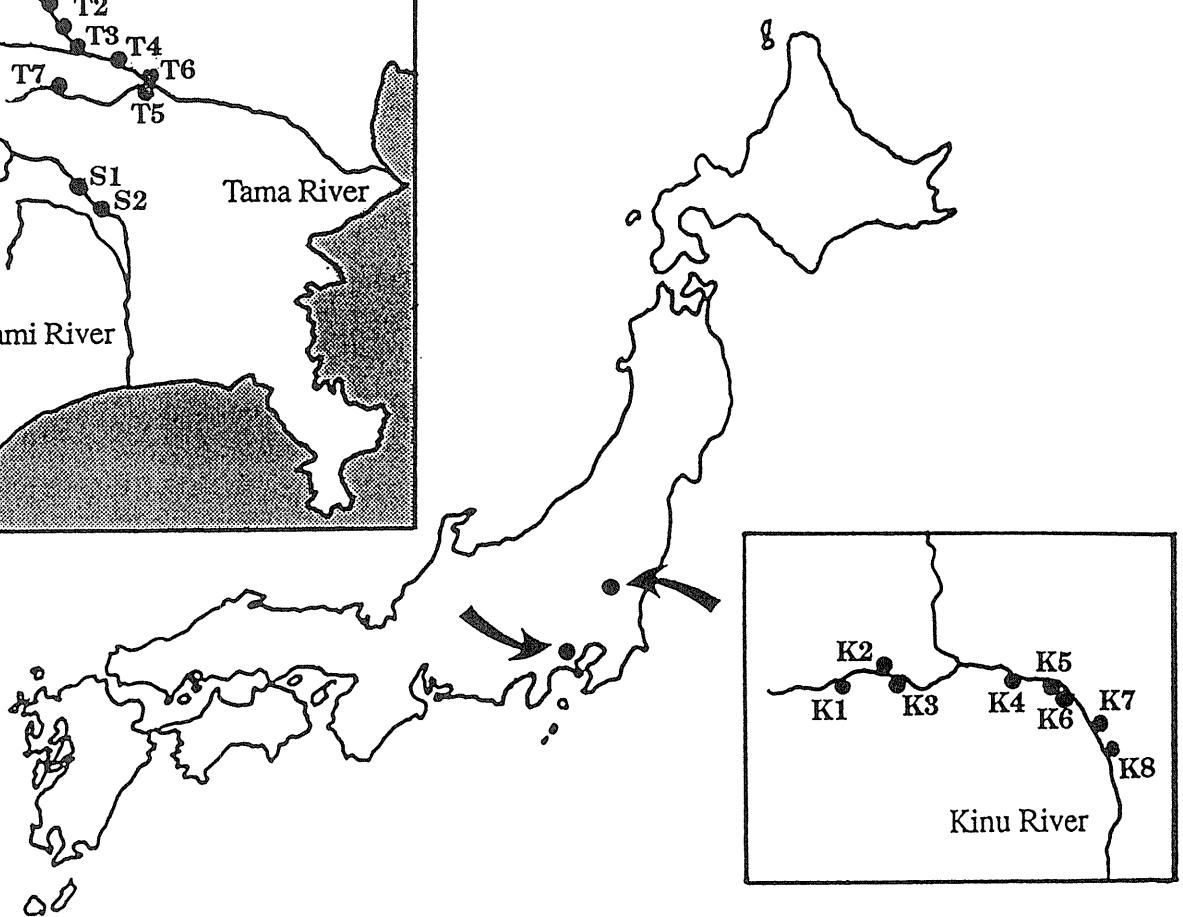
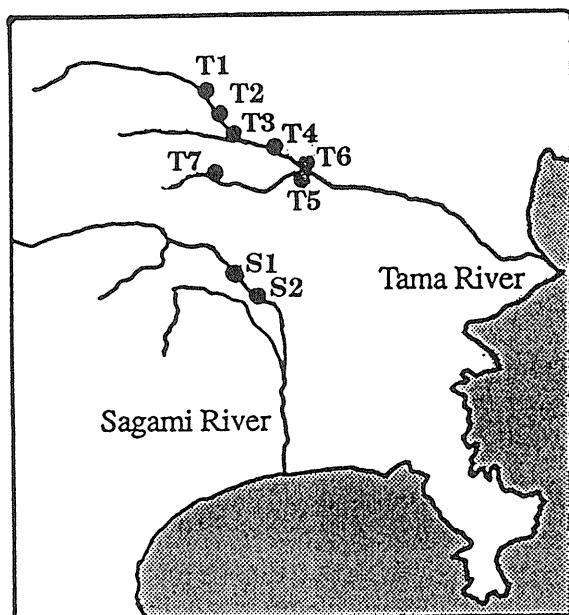


Fig. 2 . Distribution of the population examined.

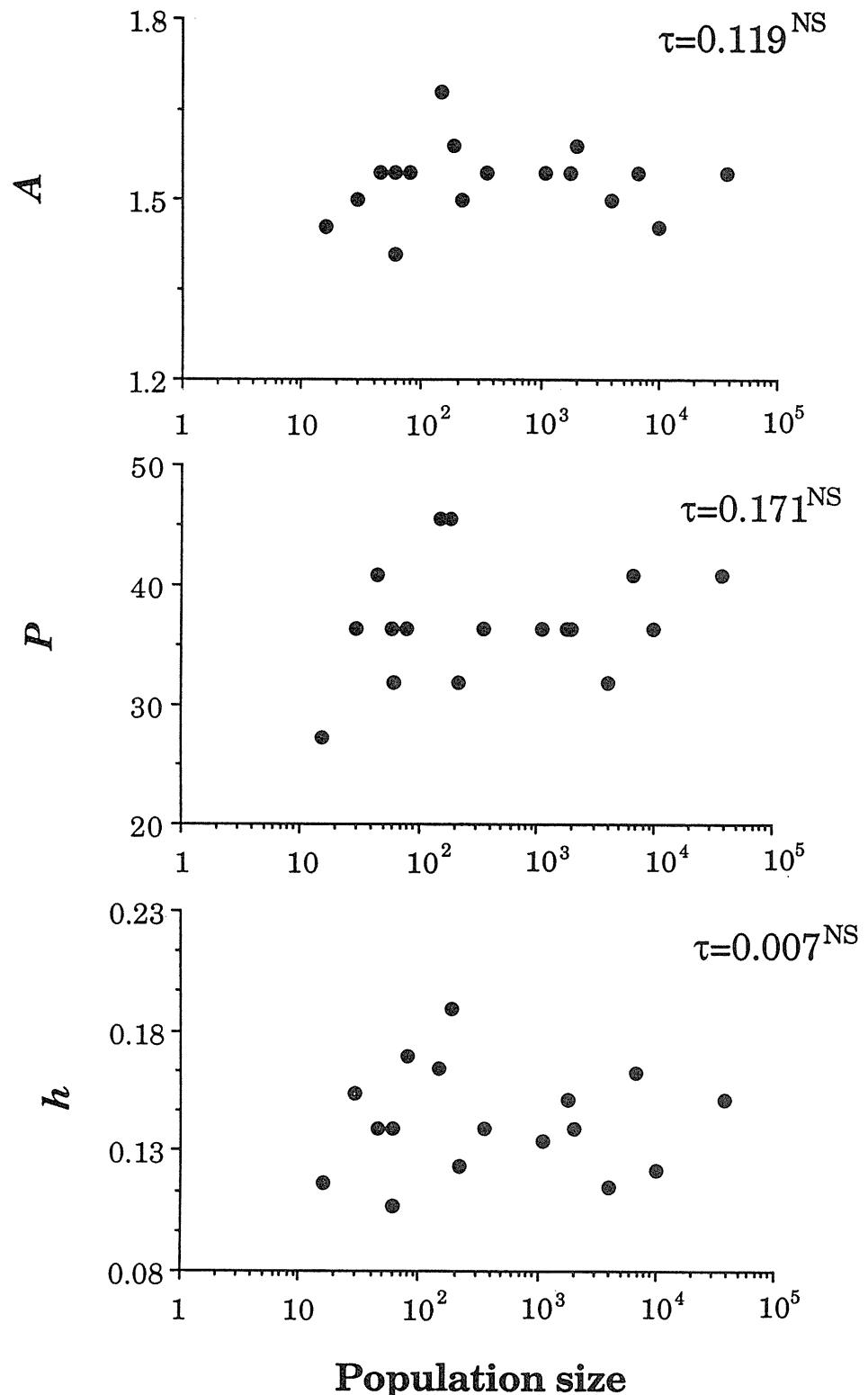


Fig. 3 . Correlation of genetic diversity values and the actual population size.

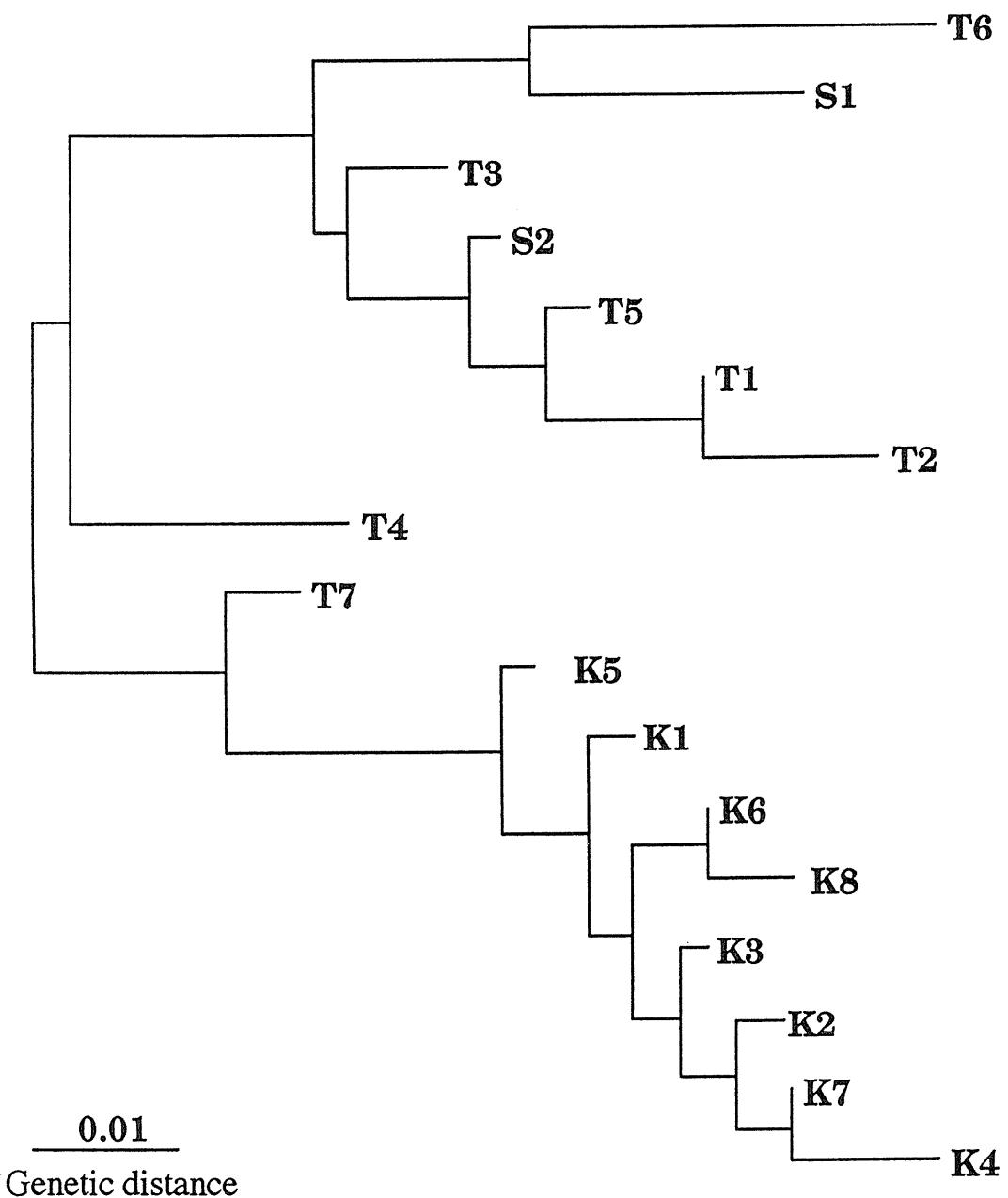


Fig. 4 . Phenogram using the neighbour joining method based on Nei's (1987) standard distance.