

10. 荒川中流河川敷の特別天然記念物 田島ヶ原サクラソウ群落の保全的 管理のための基礎的研究

1. 調査・研究の目的と意義
2. 調査・研究計画の方法
3. 調査・研究の成果
 - 3-1 サクラソウ自生群落の異型花柱性とそのクローン間変異に関する解析
 - 3-2 サクラソウ自生群落の花粉媒介昆虫と受粉花粉量ならびに種子生産性との関係に関する解析
 - 3-3 サクラソウの発芽から開花・結実に至る生活史の全期間における環境条件と生育パターンとの関係の検討
 - 3-4 サクラソウ自生群落におけるアイソザイム分析による遺伝的変異の大きさに関する解析
4. 調査・研究の要約と提言

筑波大学農林学系助教授 生井 兵治
筑波大学生物科学系講師 鷲谷 いづみ
東京大学農学部講師 丹羽 勝
東京大学農学部助手 蒲谷 肇
日本学術振興会特別研究員 大沢 良

1. 調査・研究の目的と意義

わが国古来の日本サクラソウ (*Primula sieboldii*)は、かつて全国各地に自生地がみられ、年ごとの春には色とりどりの可憐な花を咲かせて人びとの心を和ませてくれていた。しかし、近年の全国にまたがる急速な開発と都市化の波にもろにさらされ、今日ではその多くが消失してしまい、都市近郊はもとより農山村においてもごく限られた地域においてのみ小規模の自生地がみられるに過ぎない。

現代に生きる我われには、今日的欲求にのみ捕らわれること無く、これらの稀少植物に対する積極的な保全対策を可及的速やかに実施して、自然環境を破壊から守り多様な生物相を消失しないように心掛け、ひとつでも多くの種を未来に伝えなければならない義務がある。

サクラソウの繁殖システムについて概観すれば、種子繁殖と栄養繁殖を行い、前者については雌蕊が長く雄蕊が柱頭よりも低い位置にある長花柱花ばかりをつける長花柱花個体と、雌蕊が短く雄蕊が柱頭よりも高い位置にある短花柱花ばかりをつける短花柱花個体からなり、異なる花型の間で適法受粉が行われた場合にのみ受精・結実できる、自家不和合性の他殖性虫媒受粉植物である。さらに、長花柱花と短花柱花とでは生産される花粉の大きさが異なり、長花柱花の花粉は短花柱花の花粉よりも約10ミクロン小さい。したがって、柱頭上の受粉花粉を顕微鏡で観察することによって、適法受粉花粉の粒数を計測することが可能である。

本研究班の調査対象として定めた埼玉県浦和市の荒川沖河川敷にある「特別天然記念物田島ヶ原サクラソウ自生地」は、このような現状における唯一の都市化地域における群落である。この田島ヶ原サクラソウ自生地は、従来から日本サクラソウの成育に適した低湿地性立地の自然植生が比較的よく保存されてきた。しかし、近年における周辺地域の乱開発により、田島ヶ原サクラソウ自生地についてもその長期的保全が危ぶまれる事態になりつつある。いずれの稀少植物についても、ひとたび完全な消失を来せば、再びその種をつくり出すことは不可能である。

そこで、このような稀少植物の保全を積極的に図るためにには、開花・受粉・受精・結実・種子散布・種子発芽・生長という一連の世代交代のなかで集団の適応・分化や変異・衰退にとって最も大きな作用を及ぼす種子繁殖システムを総合的に解析して、生態的な保全法を確立することが望ましい。したがって、田島ヶ原サクラソウ自生地についてみれば、当自生地の気象条件や土壤条件とともに、そこに自生する他の植物種や花粉媒介昆虫などの昆虫相との関連において、種子繁殖システムを総合的に解析することは、田島ヶ原サクラソウ群落の保全に関する具体的指針を示唆するばかりではなく、個々の河川区域内に自生する他の諸稀少植物種を初めとする絶滅の危機にさらされている多くの種の生態的な保全手法の確立に大きく貢献するものと考えられる。

2. 調査・研究計画の方法

多年草であるサクラソウのような栄養繁殖と種子繁殖との併用によって世代交代ないしは集団の大きさを拡大していく植物は、空間的・資源的に余裕のある安定した環境のもとでは、栄養繁殖によるだけでも栄養系（クローニング）を確実に拡大していくことが出来る。しかし、個体群の維持を長期的に図るためにには、集団の生理的寿命や、過密あるいは外的な原因によるクローニングの消失を補うに足るだ

けの種子繁殖を行うことが不可欠である。また、サクラソウ自生集団における花器形質などにみられる大きな変異性は、種子による有性生殖の過程を経て初めて維持・拡大されるものである。

ここにおいて、有性生殖器官である花器の形成から受粉・受精を経て種子が形成されるまでの過程は、栄養生长期の物質生産とも関連しながら種子繁殖の第一の大きな閑門を成している。ところで、田島ヶ原サクラソウ自生地のサクラソウ群落についてみれば、自生地内の分布やフェノロジーについてはすでに明らかにされており、種子生産性は全体に低く、クローン間でばらつきが大きいことなども明らかになっている。しかし、これら田島ヶ原サクラソウ自生集団が、いかなる繁殖システムを保有しているかについては、従来解明されていなかった。

そこで、現在緊急な保全対策を講じる必要に迫られている可能性の高い田島ヶ原サクラソウ自生地について、以下の4つの課題を中心にして解析を行った。

- (1) サクラソウ自生群落の異型花柱性とそのクローン間変異に関する解析、
- (2) サクラソウ自生群落の花粉媒介昆虫と受粉花粉量ならびに種子生産性との関係に関する解析、
- (3) サクラソウ自生群落に及ぼす環境要因に関する解析、
- (4) サクラソウ自生群落におけるアイソザイム分析による遺伝的変異の大きさに関する解析。

これらの個々の解析を通して、サクラソウ自生群落の種子繁殖システムに関する総合的解析を行い、日本サクラソウなど稀少植物の生態的保全法の確立を図ることを目的として調査・研究を進めることにしたのである。

なお、環境がかなり悪化していると思われる田島ヶ原サクラソウ自生地の対照として、環境悪化の程度が低く、サクラソウ自生集団がかなり安全に保存されているものと予想される長野県の八ヶ岳山麓の八ヶ岳サクラソウ自生地（筑波大学農林技術センターの演習林地内で、田島ヶ原サクラソウ自生地に比べて全体に生息密度は著しく低いが、その中で最も個体数が多く比較的密度の高い1地区）を選び、諸調査について対比しながら行うこととした。

すなわち、(1)サクラソウ自生群落の異型花柱性とそのクローン間変異に関する解析では、田島ヶ原サクラソウ自生地については、サクラソウ優占度の高いA区およびサクラソウの被度が1%にも満たない区画のサクラソウ群落のなかから約80クローンを調査対象とし、それぞれのクローンの開花最盛期に各クローンから代表的な3花茎を選んで、各花茎5花、計15花について、(a)花弁の長さと(b)幅、(c)花筒長、(d)花筒口直径、(e)花筒口から薬先端までの距離ならびに、(f)花筒口から柱頭までの距離をデジタルノギスで0.01mmの精度で計測し、薬高と花柱高についてはd、e、fの測定値をもとに、それぞれd-eおよびd-fとして求めた。八ヶ岳サクラソウ自生地についても田島ヶ原の調査に準ずるが、すべてのクローンが極めて小さいものであるため、代表的な1花茎の5花について調査することを基本とした。

(2)サクラソウ自生群落の花粉媒介昆虫と受粉花粉量ならびに種子生産性との関係に関する解析では、種子生産量の制限要因として、花粉媒介昆虫の種類や飛来頻度の問題などに起因する受粉花粉の質と量に着目し、(a)開花フェノロジーと訪花昆虫の飛来頻度ならびに受粉花粉量との関係、(b)各クローンが有する潜在的な種子生产能力、(c)花粉媒介昆虫が不足している場における人為的な花粉媒介昆虫放飛の効果などについて調査した。この場合、(a)開花フェノロジーと訪花昆虫の飛来頻度ならびに受粉

花粉量との関係については、いくつかの異なる花型のクローンを選び、それらの詳細なフェノロジーを調査した。さらに、1花ごとの開花の動態ならびに訪花昆虫の種類や頻度について、肉眼による観察と8ミリ・マクロシネカメラのコマ撮りによる調査を行い、これらとの関連において柱頭上の適法受粉花粉粒数と不適法受粉花粉粒数ならびに薬内の残存花粉粒数を調査した。(b)各クローンが有する潜在的な種子生産能力については、(a)の調査で類別された諸花型の数クローンずつを選び、開花最盛期に1クローン当たり数十花について、①同花内の自家受粉、②同一クローン内の異花茎間の自家受粉、③同一花型の異なるクローン間の他家受粉、④異なる花型のクローン間の他家受粉を行い、各花型のクローンにおける各受粉法による種子生産性の程度を調査した。さらに、(c)人為的な花粉媒介昆虫放飛の効果については、各花型のクローンについて①同一花型のみに網室掛けをする区と、②隣接する異なる花型のクローン2種を合わせて網掛けをする区とを設け、人工飼育のシマハナアブを放飛して、結実に及ぼすシマハナアブの効果を調査した。

(3)サクラソウ自生群落に及ぼす環境要因に関する解析では、発芽から開花・結実までの気温、地温、降水量、日射量などについて、長期データ収録装置による収録を行い、また、田島ヶ原については冬期の火入れの影響についても、土壤条件を含めて調査を行った。また、模擬試験として田島ヶ原の表土採掘跡地より採土した荒木田土を入れた素焼き鉢（内径28cm）の表土にオギの枯れ葉を敷き詰めた状態の区と、裸地の状態の区とを設け、鉢内の荒木田土の温度を測定して、被覆土と裸地土との地温の差異を調査した。

(4)サクラソウ自生群落におけるアイソザイム分析による遺伝的変異の大きさに関する解析では、田島ヶ原集団については長花柱花クローン、短花柱花クローン、等花柱花クローンの3種類のクローン各13、12、8クローン、計33クローンを調査対象として抽出した。なお、同一パッチ内に花型の異なる2クローンが混在している3パッチも含めた。各クローンから無作為に5個体を抽出して、開花初期に各個体から成葉3枚ずつを採取し、-20°Cの冷蔵庫に保存して隨時、分析に供試した。また、比較のために八ヶ岳サクラソウ自生地についても点在している6クローンを選び、同様にして分析に供試した。これらの試料のアイソザイム分析は、すべてポリアクリルアミドゲル電気泳動法によることとし、手順はTsumura *et al.* (1989)の方法に準じて行い、下記の6酵素種について調査した。すなわち、6酵素種とは、Shikimate dehydrogenase(略称 ShDH)、6-Phosphogluconate dehydrogenase(略称 6HGD)、Gluco-6-phosphate dehydrogenase(略称 G6PD)、Glutamate oxaloacetate transaminase(略称 GOT)、Phosphoglucomtase(略称 PGM)、Phosphoglucose isomerase(略称 PGI)である。

3. 調査・研究の成果

本調査班の目的は、国内各地でその存亡が杞憂されている日本サクラソウに焦点を合わせ、とくに近年における周辺地域の開発に伴う環境変異による影響が心配されている浦和市田島ヶ原の特別天然記念物である日本サクラソウ自生地を主対象として、環境が比較的安全に保全されていると思われる長野県八ヶ岳山麓の日本サクラソウ自生地と対照しながら、自生地の気象条件や土壤条件、さらには花粉媒介昆虫などとの関連において、開花から受粉・受精・結実の過程はもとより、種子の発芽から生長・開花に至る種子繁殖の全過程ならびに地下茎からの出芽による栄養繁殖を含め、サクラソウの

繁殖システムを総合的に明らかにし、生態的保全の方法を確立しようとするものである。

本調査班が、これまでに明らかにした田島ヶ原サクラソウ自生地ならびに八ヶ岳サクラソウ自生地における調査・研究の内容は、(1)サクラソウの花器特性、とくに長花柱花・短花柱花という異型花柱性とその各クローン間の変異の検討、(2)サクラソウの花粉媒介昆虫の飛来頻度と適法受粉花粉量ならびに、その種子生産性との関係の検討、(3)サクラソウの発芽から開花・結実に至る生活史の全期間における環境条件と生育パターンとの関係の検討、(4)サクラソウ自生群落におけるアイソザイム分析による遺伝的変異の大きさに関する解析などについてである。

以下にそれらの概要を示した。

3-1 サクラソウ自生群落の異型花柱性とそのクローン間変異に関する解析

3-1-1 田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウ集団

田島ヶ原の日本サクラソウ自生地については、個々のサクラソウ群落の各クローンにおける花器形態を詳細に調査し、花冠の高さ、花柱の長さおよび薬と柱頭の位置関係にどれほどのクローン内ならびにクローン間変異がみられるかを明らかにした。

花筒の長さは平均13.1cmで、変動係数は約10%と小さかった。花筒内における薬の相対的位置は、高い位置と低い位置のほぼ2型性を示した。しかし、柱頭の高さにはかなり連続的な変異がみられ、教科書的な長花柱花、短花柱花という綺麗な2頂性はみられなかった。一方、花筒の長さに対する薬の高さ（花筒基部からの薬位置までの長さ）の比（A/T比）については、かなり顕著な2頂性を示した。この様な状況から、薬と柱頭の間の距離すなわち雌雄間距離（dif）にも、極めて幅広い変異がみられた。

したがって、従来の雌蕊の長さのみを基準とした長花柱花、短花柱花という単純な分類法は、サクラソウの花型分類には適用できないことがわかった。そこで、上述のA/T比と雌雄間距離（dif）という2つの形質パラメーターを用いたまったく新しい分類法を考案した。すなわち、まず各クローンのA/T比から、A/T比が中間的値の0.9より小さい花（A/T<0.9）と大きい花（A/T≥0.9）に分け、A/T比の小さい前者を長花柱花（Pin-type：P型）、A/T比の大きい後者を短花柱花（Thrum-type：T型）として2つの主花型に分類する。つぎに、雌雄間距離（dif）を考慮して、 $-0.1 < \text{dif} < -0.1$ のp型、 $-0.1 \leq \text{dif} \leq 2.5$ のh型および、 $\text{dif} > 2.5$ のt型の3亜花型に分類する。こうして、81クローンについて花型を分類したところ、P型が31クローン、Ph型が6クローン、Pt型が1クローン、Tt型が39クローン、Th型は4クローンであった。これを単純にP:TとしてみるとP:T=38:43であり、長花柱花クローンと短花柱花クローンの割合は統計的に1:1であることがわかった。なお、これらのうち10クローン（12%）はh亜型の形態を示し、柱頭と薬の位置がほぼ等しい高さにある等長花であることもわかった。

3-1-2 八ヶ岳サクラソウ自生地におけるサクラソウ集団

八ヶ岳サクラソウ自生地におけるサクラソウ集団については、41クローンの花の形態を調査した。その結果、田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウ集団と同様に、極めて多様な形態の存在が

認められた。すなわち、A/T比は二型性ながら田島ヶ原よりは大きい値を示し、A/T比からみてP型に分類されるクローンが28クローン（68.3%）を占めた。長花柱花（P型）：短花柱花（T型）の期待値1：1からのずれは5%水準で有意であり、長花柱花が多いことが分かった。

次に、①演習林地内のはぼ全域にわたるサクラソウの分布、②各地点におけるサクラソウの生育環境、さらには、③気温の変化とサクラソウ地上部のフェノロジーなどについても基礎的調査を行った。

その結果、①演習林地内のはぼ全域にわたるサクラソウの分布については、溪流沿いや湿原の周りなど林内のいたるところにサクラソウが点在していることが確認された。しかし、株数がまとまっている自生地はそれほど多くなく、500株以上の群落は1地点のみであり、100株以上の大きな群落からなる数地点の自生地はいずれも渓谷の川下沿いにみられた。とくに、林縁などの比較的明るい地域には、連続して大きな集団が分布していることが分かった。さらに、全調査地域における花型の分布をみると、1地点に複数のクローンが存在する場合には必ず長花柱花と短花柱花が混在していることが分かった。このサクラソウ群落は、約4ヘクタールの自生地内にクローン単位の大きなパッチとして約70万株ものサクラソウが生育している田島ヶ原サクラソウ自生地とちがって、極めて密度が低い状態にあることが分かった。

②各地点におけるサクラソウの生育環境については、ほとんど均質な生育環境にある田島ヶ原サクラソウ自生地に比べて、個々の群落がかなり多様な生育環境に置かれていることが分かった。

③気温の変化とサクラソウ地上部のフェノロジーについては、日平均気温が5～10°Cの4月下旬に出葉し、日平均気温が10～15°Cの5月中旬から6月中旬にかけて開花、日平均気温が約15°Cの7月上旬から中旬にかけて結実することが分かった。なお、結実期には上層の葉が十分に展開し、シダ、スゲ類も繁茂して林床は非常に暗くなってしまい、サクラソウの地上部は花茎を残してほとんどが消失した状態となることが分かった。

3-2 サクラソウ自生群落の花粉媒介昆虫と受粉花粉量ならびに種子生産性との関係に関する解析

サクラソウの開花から受粉・結実に至る過程はもとより、飛来する花粉媒介昆虫の種類や頻度などに関する情報は、従来極めて希薄である。そこで、開花して花粉媒介昆虫が飛来する様を、肉眼的観察ならびに8mmマクロ・シネカメラによる2秒間隔のコマ撮りを行うとともに、上記3-1で明らかにした花型とも関連させながら、自然受粉による種子生産性や人工受粉による採種量のクローン間変異などについても調査した。

3-2-1 田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウの開花と花粉媒介昆虫

田島ヶ原サクラソウ自生地では、日によってキタテハなどの蝶類の飛来がごく稀には見られる。しかし、これらの蝶類が採蜜行動を行うことはほとんど見られないことが、開花中の断続的な肉眼的観察で明らかになった。そこで、長時間に渡って連続的に観察するため、数日間にわたって8mmマクロ・シネカメラを日の出直前に何台も設置し、1視野に開花当日の花をつけた4花茎が入るようにして、2秒間隔のコマ撮りを午後2時まで行い、後にメモーション解析装置を用いて解析を行った。その結果、日の出時刻の午前5時頃には、すでに花弁の先端が少し開き始めており、6時前後にはプラン

デーグラスまたはワイングラス状となり、9時前後には完全に開花が進み、花弁は水平または外側に幾分反転した状態となることが分かった。また、飛来昆虫についてみると、サクラソウの近傍に混生しているノウルシやハルジョオンの花には稀にコハナバチやヒラタアブの仲間が飛来するが、サクラソウの花への飛来は皆無であった。

3-2-2 田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウの受粉花粉量と種子生産性

上述のような状況から推測して、田島ヶ原のサクラソウ自生地におけるサクラソウ集団にみられる結実種子は主として自殖種子であり、種子生産性（結実率）は極めて低いものと思われた。そこで、各クローンについて受粉花粉の状態や自然受粉による1花茎当たりの結実種子数を調査した。

その結果、自然他家受粉を行った形跡はまったくみられなかった。また、1花茎当たり結実種子数には大きなクローン間変異が見られ、同花型のクローン・グループ内にもかなりのばらつきがみられたが、長花柱花（P型）クローン・グループには種子生産量の多いクローンが比較的多く存在することがわかった。すなわち、1花茎当たり平均成熟果数と平均生産種子数は、長花柱花（P型）クローン・グループではそれぞれ 1.6 ± 1.7 および、 61.4 ± 81.9 であるのに対し、短花柱花（T型）クローン・グループではそれぞれ 0.7 ± 1.0 および、 16.2 ± 28.0 であった。したがって、田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウ集団には、1花茎当たりの平均成熟果数と平均結実種子数の花茎間差異は5%水準で有意であり、花型の異なるクローン・グループの間には結実・種子生産性について有意な差異が存在することが明らかとなった。なお、開花期にクローン間変異がみられたので、早咲きクローン・グループと遅咲きクローン・グループの間に結実・種子生産性の差異が見られるか否かを検定したところ、開花期の違いによる差異は認められなかった。

さらに、各花型グループ内の個々のクローンについて1花当たりの平均種子生産量をみると、P型クローン・グループに属する35のクローンは3つの型（サブグループ）に分けることができた。すなわち、第1のサブグループは、1花当たり20～35粒をつけ他のクローンの種子生産量と比べて並外れて多量の種子生産量を示す高種子生産性クローンで、これはわずかに4つのクローンのみであった。第2のサブグループは中程度の種子生産性を示すグループで、1花当たり5～15粒の種子を実らせる13のクローンである。また、第3のサブグループは低種子生産性を示すグループで、1花当たりわずか5粒以下の種子をつける18のクローンである。一方、T型クローン・グループには、このような種子生産性に関するグループ内変異はまったく認められず、P型クローン・グループの第3のサブグループに相当する低い種子生産性を示すクローンばかりであった。

なお、薬の高さ／花筒の長さ比（A／T比）と雌雄間距離に基づく分類法による花型と結実種子数との関係についてみると、等長花的なP型には高い結実率を示すクローンがみられたものの、雌雄間距離が中程度のh型のクローンが高い種子生産性を示すとは限らなかった。

3-2-3 田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウの人工受粉による採種量のクローン間変異

以上2つの調査によって、田島ヶ原サクラソウ自生地では、長花柱花クローンと短花柱花クローン

との間の他家受粉（適法受粉）による他殖性種子生産を保証するだけの花粉媒介昆虫の飛来がないために、自家受粉によっても結実が可能な少數のクローンにおいてのみ、ある程度多量の種子を生産しているだけであることが明らかとなった。

そこで、いろいろな花型が含まれるように11クローンを選び、人工受粉によって自家受粉、適法他家受粉（長花柱花個体と短花柱花個体との間の正逆交配）、不適法受粉（長花柱花個体間または短花柱花個体間の他家受粉）ならびに、無処理（放任受粉）の4種類の受粉を試みた。その結果、無処理、自家受粉ならびに不適法受粉による1花当たり結実種子数は、上述の自然受粉による値と極めてよく似ており、いずれのクローンにおいても人工的に自家受粉花粉量を増やしても、種子生産量の有意な増加は認められなかった。それに対し、多くのクローンでは適法受粉を行うと、結実率の著しい向上が見られた。すなわち、最も顕著な適法他家受粉効果がみられたT型のあるクローンでは、無処理、自家受粉、不適法受粉ではまったく種子が実らなかったのに、適法受粉では1花当たり 48.4 ± 21.9 粒もの種子が結実した。

以上の実験結果から、田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウでは、種子繁殖はまれであり、しかも極めて限られた特定のクローンの自家受粉による自殖種子のみであることがわかった。

なお、人工飼育によるシマハナアブの放飛実験を試みたが、シマハナアブはサクラソウの花に対してまったく関心を示さず、受粉効果はまったく認められなかった。

3-2-4 八ヶ岳サクラソウ自生地におけるサクラソウへの訪花昆虫

晴天の日には、ハチ類やアブ類がかなり飛来し、とくに午前中はハチ類が、午後にはアブ類が頻繁に訪花することが分かった。ただし、これらの訪花昆虫の多くはサクラソウの花に止まるだけで吸蜜行動をとらなかった。そんな中で、ビロウドツリアブ、ハナダカハナアブ、トラマルハナアブ、ダイミョウジセセリ、イチモンジセセリの5種は、完全な吸蜜行動を行うことが確認された。これらの訪花昆虫のうち、とくにビロウドツリアブと2種のハナアブは、高杯状のサクラソウの花に対する花粉媒介昆虫として大きく貢献しているものと思われた。

3-3 サクラソウの発芽から開花・結実に至る生活史の全期間における環境条件と生育パターンとの関係の検討

田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウの生態的保全を図るうえで、この地域の諸環境条件を明らかにすることが不可欠である。とくに、特別天然記念物となっているサクラソウ自生地の維持・管理における最近の特徴として、枯れ草の刈り取りに要する人手不足から行われるようになった野焼きがサクラソウ自生地における土壤の化学性や物理性などの土壤特性に及ぼす影響を明らかにしておくことが望まれる。すなわち、1962年頃までは、オギ、ヨシ等が燃料やヨシズ資材として利用されてきたために毎年刈り取りが行われてきた。この場合には地表は枯れた下草などに覆われたまま冬期を過ごしたが、野焼きをするようになってからは、野焼きによって地表が裸になり、サクラソウにとって新たな地表環境がつくられることになった。

そこで、田島ヶ原サクラソウ自生地の野焼き区と刈り取り区について、土壤の化学性や物理性など

の土壤特性に及ぼす影響ならびに、冬季の気温や地温などの気象データを調査した。また、模擬試験として、田島ヶ原の表土採掘跡地より採土した荒木田土を入れた素焼き鉢の表土にオギの枯れ葉を敷き詰めた状態の区と裸地の状態の区を設け、地温の差異を調査した。

3-3-1 田島ヶ原サクラソウ自生地の野焼き区と刈り取り区における表土の物理・化学性の差異

調査の結果、田島ヶ原サクラソウ自生地における野焼き区と刈り取り区における表層0～5cmの表土の土壤の塩基飽和度については、野焼き区とくにサクラソウ以外の優先種がオギでなく蔓(つる)性植物の区域では、83～100%と刈り取り区の値と比べて顕著に高く、野焼き区ではカルシウムとマグネシウムの含有量が著しく高まっていることが分かった。また、田島ヶ原サクラソウ自生地における可給態磷酸濃度についてみると、野焼き区では表層の土壤 100g当たり 9.0～17.3mgと高く、刈り取り区に比べて2倍も含有していることが分かった。

このように野焼き区の表土が刈り取り区の表土に比べて塩基飽和度、可給態磷酸濃度ともに際立って高い値を示した原因是、野焼きされた区域の表層には枯れ草の灰から酸化カルシウムや酸化マグネシウムが大量に供給され、多量の磷も供給されうるからであると思われる。しかし、刈り取り区ではこのような供給がないにもかかわらず、群生するオギが大量の磷酸を吸収しながら繁茂した後に刈り取られ、区域外に持ち去られるために、このような低い値となっているものと思われる。

したがって、田島ヶ原サクラソウ自生地において、枯れ草を除去する手段として長年月にわたって刈り取り除去が繰り返されると、磷酸欠乏が生じる可能性が高いものと予想される。

3-3-2 田島ヶ原サクラソウ自生地における冬季の気温や地温などの気象データに関する調査

気象データに関しては、温度の日較差は気温、地表温度、表層2cm下の地温の順に大きいことが分かった。また、天気のよい日ほど日較差が大きかった。さらに、野焼き以前と以後における温度の差異についてみると、野焼き以後では地温の最高温度と最低温度の間の幅が極めて大きくなり、地温についても大きな日較差が見られるようになることが分かった。このことは、野焼きによる地表の裸地化が原因と思われた。

ここで、サクラソウの芽生えには、冬期間の地温の変動が大きく作用していることがこれまでの調査で明らかになっている。

なお、田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウの花芽分化については、春に開花してから大分経った9月下旬から10月上旬にかけて花芽の分化が始まり、11月中旬までには花器の諸器官の原基を備えた花芽となる。このようにして、花芽は翌年の1月下旬までは原基のままで停止しており、2月上旬から下旬にかけて花芽が動き出すことが明らかになっている。

したがって、野焼きを行う時期によって発芽時期が変動する可能性があるものと思われる。

3-3-3 野焼き区と刈り取り区の地温の差異に関する模擬試験

野焼き区と刈り取り区の地温の差異に関する模擬試験の結果では、地表温の日較差は晴天の日ほど大きく、地表温度の最高平均、最低平均、日較差平均は、それぞれ裸地区では16.4°C、-1.0°C、

17.4°Cであったが、被覆区では 7.8°C、0.7°C、7.2°Cであり、裸地区すなわち野焼きに相当する区では最高地温と日較差について著しく大きな値となることが分かった。

以上の模擬試験の結果から、田島ヶ原サクラソウ自生地では、野焼きによる地表の裸地化が地表面の最高温度を著しく高める結果、日較差が大きくなることが明確に示された。したがって、野焼きの時期の早晚が、サクラソウの栄養茎の芽生えの時期や自然落下種子の発芽の時期を早めたり遅めたりすることが強く示唆される。

3-4 サクラソウ自生群落におけるアイソザイム分析による遺伝的変異の大きさに関する解析

田島ヶ原サクラソウ自生集団における潜在的遺伝変異の大きさを、八ヶ岳サクラソウ自生集団との比較において明らかにしておくことは、特別天然記念物としてのサクラソウ集団の長期的な保全を図るうえで、1つの指標として大きな意味がある。

そこで、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって、6酵素種、すなわち Shikimate dehydrogenase(略称 ShDH)、6-Phosphogluconate dehydrogenase(略称 6HGD)、Gluco-6-phosphate dehydrogenase(略称 G6PD)、Glutamate oxaloacetate transaminase(略称 GOT)、Phosphoglucomtaze(略称 PGM)、Phoshoglucose isomerase(略称 PGI) の6酵素種について、田島ヶ原自生地の30パッチすなわち、長花柱花クローン、短花柱花クローン、等花柱花クローンの各13、12、8クローン、計33クローンと、八ヶ岳サクラソウ自生地の計6クローンを選んで調査した。

3-4-1 クローン内変異の有無

まず、田島ヶ原サクラソウ自生地におけるパッチ内に長花柱花クローンと短花柱花クローンがモザイク状に混在している3パッチ11クローンについて、長花柱花、短花柱花各5個体ずつの6酵素種のアイソザイム分析を分析した結果、各クローンともクローン内の同一花型内には個体間変異は認められなかった。同一パッチ内の花型間には、酵素によっては遺伝子型の違いが認められた。これらの結果と既述の外部形態および植物季節学的調査結果から、田島ヶ原における同一花型のクローン内の各個体は、すべて栄養繁殖によって増殖した集団であるものと考えられた。

3-4-2 クローン間変異の有無

上記の結論をもとに、田島ヶ原サクラソウ自生地の残りの22クローンと八ヶ岳サクラソウ自生地の6クローンの計28クローンについて、各1個体からの成葉サンプルを供試して、6酵素種のアイソザイム分析を行った。こうして、前期11クローンの結果と合わせ、総計39クローンについて、計10遺伝子座について調査することが出来た。すなわち、10遺伝子座とは、Shd-1、6Pg-1、6Pg-2、G6p-2、Pgm-1、Pgm-2、Pgi-1、Pgi-2、Got-3、Got-4の遺伝子座である。

調査の結果、変異が認められた酵素は 6PGD、G6PD、PGM、PGI、GOT の5種であり、変異の認められた遺伝子座は6Pg-1、6Pg-2、G6p-2、Pgm-1、Pgi-1、Got-4 の6遺伝子座であった。

そこで、変異の認められたこれらのアイソザイムについて、各クローンの遺伝子型を推定することによって、①多型遺伝子座の割合、②1遺伝子座の平均対立遺伝子数、③平均異型接合性を求めた。

その結果、①多型遺伝子座の割合については、田島ヶ原サクラソウ自生地の集団では40.0%、ハケ岳サクラソウ自生地の集団では50.0%、②1遺伝子座の平均対立遺伝子数については、両集団とも1.6個、③平均異型接合性については田島ヶ原サクラソウの集団では0.192、ハケ岳サクラソウの集団では0.196となった。したがって、各指標について田島ヶ原サクラソウ自生地とハケ岳サクラソウ自生地のサクラソウ集団の間には、大きな差異は認められないことが分かった。

そこで、それぞれの遺伝子型から数量化理論第Ⅲ類および正準判別分析を用いてクローン間の類縁関係を調べた。その結果、現時点における田島ヶ原サクラソウ自生地のサクラソウ集団の潜在的遺伝変異の大きさは、花粉媒介昆虫の訪花が盛んなハケ岳サクラソウ自生地のサクラソウ集団に比べて、特に小さいとは言えないものと思われた。

今回の調査はサクラソウ自生地における一部のクローンについてのものであるが、自生地における全集団について同様のアイソザイム分析を行うことによって潜在的遺伝変異の大きさに関する基礎試料を整備しておき、何年か置きに再調査を繰り返していくれば、集団の遺伝的変異の大きさを容易かつ正確に監視でき、有効な保全処置を講じることが可能になるものと期待される。

4. 調査研究の要約と提言

サクラソウなど栄養繁殖と種子繁殖を行う多年生の草種は、一般に安定した環境のもとでは栄養繁殖のみでもクローンとしての株数をかなり安定的に保つことができるといわれている。しかし、長期的な個体の維持のためには、生理的寿命、過密あるいは外的要因などによるクローンの消失を補うに足るだけの種子による繁殖が不可欠とされている。

ここで、種子繁殖は、①空間的な散布を行い分布域を拡大させる、②有性生殖によって遺伝子構成の多様性を維持して個体群の環境変動に対する抵抗性を増大させる、③土中埋蔵の種子として個体群が消滅する危険を回避するなど、クローン化した個体群の維持にとって極めて重要な意味を持っている。しかし一方では、種子繁殖は環境条件によって独特な制限を受けることが多く、極めて不安定な側面を持っている。すなわち、①有性生殖に使用可能なエネルギーおよび物質量、②受粉を支配する花の形態的・生理的特性、③花粉媒介昆虫など花粉媒介体の種類と頻度ならびにその活動水準、④配偶同種個体の存在およびその多寡、⑤植物体、花、果実および種子の捕食者とその活動水準などによって、生産種子の質と量が大きく左右されることになる。とくに、サクラソウなどの他殖性植物においては、②、③などの要因は自殖性植物以上に大きな制限要因となる。

本研究班は、このような観点に立って田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウの現状をハケ岳サクラソウ自生地との比較しながら調査を行った。その結果、田島ヶ原サクラソウ自生地における現状に関して、以下のことが明らかとなった。

- (1) 田島ヶ原サクラソウ自生地では、開花・結実特性やアイソザイム遺伝子などについて大きなクローン間変異が維持されている。
- (2) 田島ヶ原サクラソウ自生地では、花粉媒介昆虫が極端に不足しているため他殖性種子を生産できる条件がない。
- (3) 田島ヶ原サクラソウ自生地では、個々の花の柱頭に自然受粉されている花粉は、そのほとんど総

てが自花受粉によるものと推定される。

(4) 田島ヶ原サクラソウ自生地では、ある程度の自殖性を示すクローンがみられ、これらのクローンのみが自殖性種子を生産している。

(5) 田島ヶ原サクラソウ自生地では、自然状態ではほとんど結実がみられないクローンについては、異型花柱花クローン間の人工他家受粉によって結実率の大きな向上が認められる。

田島ヶ原サクラソウ自生地におけるサクラソウの種子繁殖に関しては、上記(1)の事実から、少なくとも數十年前までは田島ヶ原においても無作為な自然受粉による他殖性種子が豊富に結実し1つの遺伝子プールとして機能していたものと推察される。しかし、上記(2)～(5)の現状から類推して、こうした状況が今後も続ければ保護区のサクラソウにみられる現在の豊かな変異性が消失してしまう可能性が極めて強いものと思われる。なお、完全な自然条件下で生息している野性植物においても、種子繁殖に対する様々な制限要因が作用しており、結実率が1%にも満たない場合があることが知られている。したがって、田島ヶ原サクラソウ自生地における種子生産量の低さが花粉媒介昆虫の欠如にのみ依存しているのか否かは、さらに検討を深める必要がある。

いずれにしても、今回の調査によって田島ヶ原サクラソウ自生地には花粉媒介昆虫が極めてすくないことは明らかであるが、その原因は明確ではない。しかし、周辺地区の開発は進んでいるものの、いまだかなりの自然が維持されている八ヶ岳サクラソウ自生地では豊富な花粉媒介昆虫が確認されたのに対して、田島ヶ原サクラソウ自生地周辺の開発は急激を極めていることから、周囲の住宅化やゴルフ場などの乱開発とそこから発生する諸マイナス要因が主要な原因と推察される。

現状ではこれらのマイナス要因を完全に防ぐ術はない。しかし、環境汚染は誘発する殺虫剤や除草剤の規制を強化するとか、人為的に無作為な他家受粉を施して他殖性種子を結実させ、人工的に幼植物を育成して保護区内のサクラソウ消失地区に適宜補植してあげるなどの補助的手段を講じることが効果的であると思われる。

また、現時点の田島ヶ原サクラソウ自生地における全クローンについてポリアクリルアミドゲル電気泳動法によってアイソザイム分析を行い、以後数年置きに同様の調査を繰り返すことをルーチン化すれば、集団の遺伝的変異の大きさの変動を正確に監視でき、有効な保全対策を構築する上で、大きな示唆を与えるものと期待される。