

広島県芸北町サクラソウ集団の葉緑体DNA変異

本城 正憲¹⁾・津村 義彦²⁾・鷲谷 いづみ³⁾・大澤 良¹⁾

¹⁾筑波大学生命環境科学研究科 ・ ²⁾森林総合研究所 ・ ³⁾東京大学農学生命科学研究科

The Chloroplast DNA Variation of *Primula sieboldii* Populations in Geihoku, Hiroshima Prefecture

Masanori HONJO¹⁾, Yoshihiko TSUMURA²⁾, Izumi WASHITANI³⁾ and Ryo OHSAWA¹⁾

¹⁾ Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba,
Tsukuba, Ibaraki 305-8572,

²⁾ Department of Forest Genetics, Forestry and Forest Products Research Institute,
Tsukuba, Ibaraki 305-8687 and

³⁾ Graduate School of Agricultural and Life Science, University of Tokyo Tokyo 113-8657

Abstract: To infer the origin of two *Primula sieboldii* populations (Makura and Kidukahara) in Geihoku, Hiroshima Prefecture, the chloroplast DNA variation was examined. Plants of the Makura population showed a new haplotype Y, which were phylogenetically closely related to haplotypes which were distributed in Kyushu. A plant which was collected from Kidukahara and now cultivated in Mr Kodama's garden showed haplotype I which was also found from Saitama Prefecture in eastern Honshu. Based on the results of chloroplast DNA variation and the condition of habitat, the Makura population was assumed to be the indigenous one. On the other hand, it was suggested that a plant collected from Kidukahara might have been brought from another region. Therefore, from the aspect of conservation of the local endemic genetic diversity, transplanting of *P. sieboldii* collected from Kidukahara into native populations in Geihoku should be avoided.

©2005 Geihoku-cho Board of Education, All rights reserved.

はじめに

サクラソウ *Primula sieboldii* は日本の北海道南部から九州およびアジア北東部の湿った落葉樹林や草地に生育する多年生草本である。集団内にめしべが高くおしべが低い位置にある花（ピン花）と、逆にめしべが低くおしべが高い位置にある花（スラム花）の2つの花型が見られる異型花柱性を示す。そして、サクラソウの健全な種子生産にはトラマルハナバチ *Bombus diversus* などによる異なる花型間での交配が必要である (Washitani *et al.* 1995)。サクラソウは

地下茎によるクローン成長も行い、クローン成長で増えたそれぞれの株をラメット、これらの遺伝的に同一なラメットの集まりをジェネットと呼ぶ。ジェネット間では、花卉の色、形、大きさに大きな変異が見られ、ジェネットの識別を目視により行うことが可能である (Washitani *et al.* 1991)。近年、生育地の開発や盗掘によりサクラソウの分布は衰退し、環境庁の植物版レッドデータブックでは絶滅危惧Ⅱ類として記載されている (環境庁 2000)。

広島県内では三良坂町や西城町などの県北東部および県北西部の芸北町に分布しているが、近年急速に衰退し、「広島県の絶滅のおそれのある野生生物」(広島県野生生物保護対策検討会 1995) では危急種として記載されている。

芸北町内のサクラソウについては、枕地区のサクラソウ集団など町内の山野の湿った場所に生育しているものの他に、八幡在住の児玉集氏の庭で栽培されているものが知られている。後者は、かつて町内の木東原に存在した「たたら製鉄」と呼ばれる日本古来の伝統的な製鉄業に従事する人たちの集落内に生えていたものを1931~32年頃に児玉氏が掘り取って自宅の庭で栽培しているものである (児玉集氏 私信)。1940~41年頃になると、木東原のその場所にはわずか一株がカヤ原の中に残存するのみであったと言う。児玉氏によると、このサクラソウはたたら製鉄に従事する人たちにより他の地域から持ち込まれたものである可能性があるという。また、従来より町内の山野に生育しているサクラソウについても、元々この地域に自生しているものであるとする説と、他の地域から持ち込まれたものであるとする説とがあり、その由来については不明となっている。

植物の株の由来を探るうえでは、葉緑体DNA変異が有効な指標となる (Deguilloux *et al.* 2003)。葉緑体DNAは一般に被子植物では母系遺伝する。その塩基配列タイプはハプロタイプと呼ばれ、種子親の系統を反映している。多くの植物種において種内にいくつかのハプロタイプが見出されており、なおかつそれらのハプロタイプはしばしば地域特異的に分布していることが報告されている。サクラソウにおいても日本全国の集団を対象に葉緑体DNA変異が調べられており、多くのハプロタイプはある特定の地域・集団にのみ分布することが明らかになっている (Honjo *et al.* 2004)。したがって、葉緑体DNA配列を指標として、あるサクラソウ株がどこの地域に由来するのか明らかにできる可能性がある。

本研究では芸北町枕地区のサクラソウ集団と木東原由来のサクラソウの葉緑体DNA変異を調べ、それぞれのサクラソウ株の系統を明らかにし、本来の自生であるのか、それとも移入起源であるのか推定することを試みた。また、これらのサクラソウ生育地の現況を把握し、今後の芸北町のサクラソウ集団を保全していくうえで注意すべき点について言及することとした。

調 査 方 法

サクラソウの開花期にあたる2003年5月8日に枕地区のサクラソウ集団の10ジェネットおよび木東原由来のサクラソウ1ジェネットから葉を採取した。葉の採取の際には、サクラソウ集団の現状を把握することを目的として、集団内の現存ジェネット数と花型を計測した。採取した葉は遺伝分析に供試されるまで-20℃のフリーザーで保存した。Honjo *et al.* (2004) と同じ方法により葉からDNAを抽出し葉緑体DNAの5ヶ所の非コード領域 (*trnT-trnL*, *trnL* intron, *trnL*

-*trnF*, *trnH* - *psbA*, *trnD* - *trnT*) の塩基配列を決定した。これらの塩基配列をもとにハプロタイプを決定した。また、得られた塩基配列に基づいて、ハプロタイプ間の系統関係をソフトウェア PAUP 4.0b10 (Swofford 2002) を用いて最節約法により推定した。ただし、系統進化を反映していない可能性が考えられる1塩基反復配列の反復数変異は系統解析に含めなかった。

調 査 結 果

1. 生育地の状況

1) 枕集団

枕集落を大朝町方面に上がった山中の比較的平坦な場所を流れる小さな沢沿い100m×10m程度の範囲にサクラソウは生育していた。周囲は落葉樹林であるが、かつて植林されたスギも生育している。サクラソウ保護のために一部のスギはすでに伐採されており、地元の方々により下草刈りも行われている。花型ごとのジェネット数は、ピン17、スラム15、未開花（つぼみの状態のため花型を確認できなかったもの）1、非開花2であった。また、多くの小花の花筒の中に、サクラソウの花粉を食べたりそこで交尾したりすることが報告されている（鷺谷 1998）、ハナムグリハネカクシ属の甲虫が認められた。

2) 木東原由来のサクラソウ

芸北町八幡の児玉氏の庭に多数のラメットが栽培されているが、花型は全てスラムであり、また花卉の色や形から判断して1ジェネットであると推定された。児玉氏の案内により、当初生育していた木東原に行ってみたが、現在はスギが植林されていて林床は暗くサクラソウの生育は認められなかった。

2. 葉緑体DNA変異

枕集団から見出されたハプロタイプ（ハプロタイプYと呼ぶことにする）は、これまでの日本全国のサクラソウ集団を対象とした葉緑体DNA変異の調査からは見出されていないものであった（図1）。系統解析の結果、ハプロタイプYは九州から本州中部にかけて分布するハプロタイプから構成されるクレードIに属し、九州の阿蘇に分布するハプロタイプU、Vと近縁であった（図2）。一方、木東原由来のサクラソウは、これまでに埼玉県野生集団および鳥取県日南町の民家の庭で栽培されているサクラソウから見出されているハプロタイプIを示した。同じ広島県でも、西城町など県北東部に分布するサクラソウはクレードIIに属するハプロタイプを示し、芸北町の枕、木東原のいずれのサクラソウとも異なる母系に属していた。

考 察

1) 枕集団と木東原由来のサクラソウの起源、特に自生であるかどうかについて

サクラソウの場合、その集団が移入起源であるか見分ける手がかりとしては、(1)植生や立地条件など生育地の環境が本来のサクラソウ生育地としてふさわしいか、(2)周辺に複数のサクラソウ集団が存在するか、(3)集団内に複数のジェネットが存在するか、特にピンとスラムの両花型が存

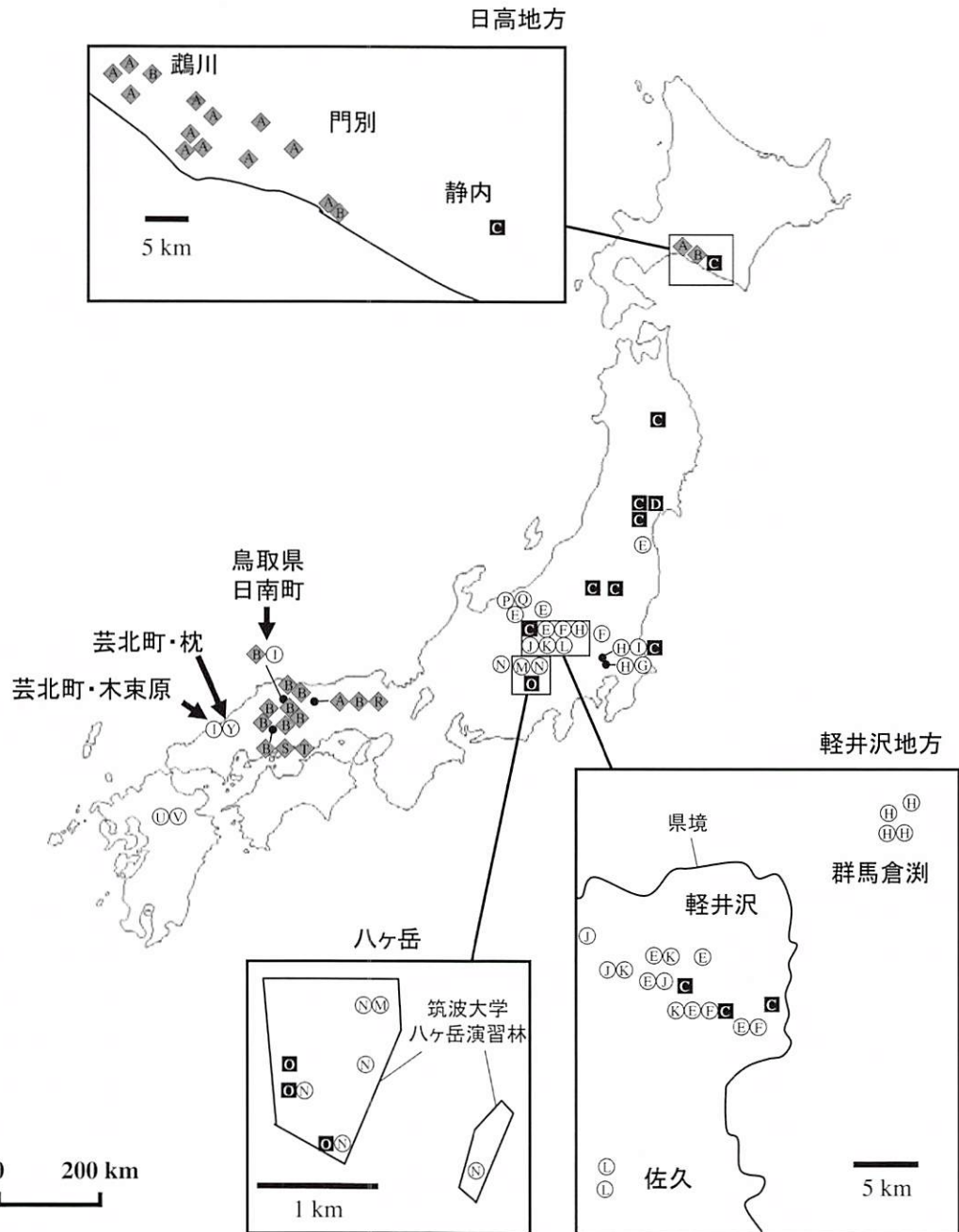


図1 日本全国のサクラソウ集団から見出されている22個のハプロタイプ (Honjo *et al.* 2004) および芸北町の枕集団および木束原由来のサクラソウから見出されたハプロタイプの地理的分布. クレード I, II, III (図2) に属するハプロタイプはそれぞれ白色の丸, 灰色のひし形, 黒色の四角で示した. 1 集団内に複数のハプロタイプが見出された場合は, 横に並べて図示した. (Honjo *et al.* 2004を改変)

在するか、(4)集団が示す遺伝的変異が、種の分布域全域にわたる遺伝的変異の地理的分布からみて妥当であるか、といった点があげられる。枕集団の場合、落葉樹林内の沢沿いの湿った場所に生育しており、これは中国地方におけるサクラソウ生育地の典型的なものであるといえる。また、町内には枕集団以外にも複数の野生集団と考えられるサクラソウ生育地が存在しているとされる(表崎崇樹氏 私信)。枕集団内には計35ジェネットが認められ、ピン、スラム両花型が存在しており、種子繁殖による集団の存続が可能であると考えられる。葉緑体DNA変異をみると、枕集団は固有のハプロタイプを示し、他の中国地方のサクラソウ集団とは異なるものであった(図1)。しかしながら、枕のハプロタイプは地理的に近い九州から見出されているハプロタイプと近縁であり、なおかつこのハプロタイプが属するクレード1は九州と本州中部に分布しているので、それらの中間に位置する中国地方から見出されてもおかしくはない。以上のことから枕のサクラソウ集団は本来の自生であることが推定される。

一方、木東原由来のサクラソウはハプロタイプIを示した。ハプロタイプIはこれまでに埼玉県
の野生集団から見出されており、また、鳥取県日南町の民家で栽培されているサクラソウ1ジェ
ネットからも見出されている(Honjo *et al.* 2004)。日南町のものはかつて付近に存在した野生集
団から掘り取ってきたものとのことであったので、中国地方にもハプロタイプIを示すサクラソ
ウが分布しているのかもしれない。しかしながら、以下の2つの理由から、ハプロタイプIが中
国地方の野生集団に自然分布するかについては疑問も残る。(1)ハプロタイプIに近縁なハプロタ
イプ(図2: M, N, P, Q, H, L, J, E, G, K)はいずれも中部・関東地方にのみ分布(図1)、
(2)ハプロタイプIを示した芸北と日南の2ジェネットはいずれも栽培されているものであり、中
国地方の現存野生集団(広島、岡山、鳥取の計13集団43ジェネット)からはハプロタイプIは見
出されていない。さらに、サクラソウが観賞用にしばしば庭に植えられ人の手による長距離移動
が起こりうることを考えると、ハプロタイプIを示した2ジェネットは関東などの他地域から持
ち込まれたものである可能性も考えられる。

2) 芸北町のサクラソウ集団の保全に向けて

芸北町枕地区のサクラソウ集団は固有のハプロタイプを示し、地域固有の遺伝的多様性の保全
(鷺谷・矢原 1996, 矢原・川窪 2002)という観点からもきわめて重要な集団である。枕集団と
木東原由来のサクラソウは異なる母系に属し、さらに後者は移入起源である可能性も考えられる
ので、両者は別のもので管理していく必要がある。木東原由来のサクラソウを枕集団など山
野に点在するサクラソウ生育地に植えることは避けなければならないが、その一方で木東原由来
のサクラソウは人とサクラソウの歴史的な関わりを示す、民俗植物学的に興味深い存在であると
考えられるので、枕地区のサクラソウとは異なる系統であるという認識のもとに保存していくこ
とが重要であると思われる。また、枕集団は広島県北東部のサクラソウ集団とは異なる母系に属
するので、同じ広島県内といえどもこれらの地域間での植物体の移動は避ける必要がある。サク
ラソウの生育にとっては適度な下草刈りなどにより林床が明るく保たれる方が好ましいので(鷺
谷 1998)、現在枕集団で地元の方々によって行われている下草刈りが今後も行われていくことが
サクラソウの保全にとって重要であると考えられる。

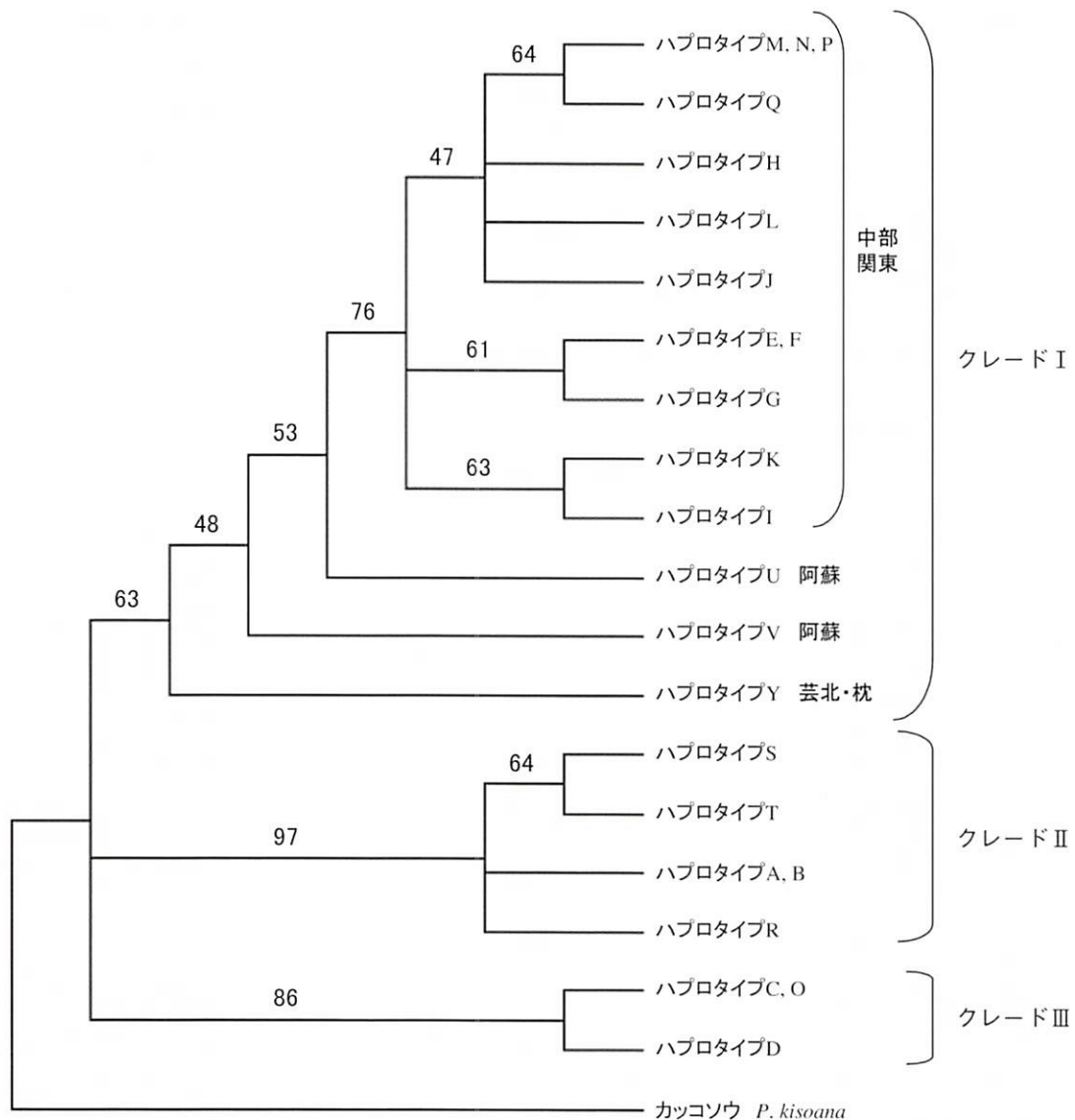


図2 日本全国のサクラソウ集団から見出された23個の葉緑体DNAハプロタイプの塩基配列に基づいて、最節約法により構築した系統樹。ただし、葉緑体DNA配列中の1塩基反復配列の反復数だけが異なるハプロタイプ(AとB; CとO; EとF; M, N, PとQ)は、系統解析においては区別しなかった。外群として近縁種であるカッコソウを用いた。23個のハプロタイプはクレードI, II, IIIの3グループに分かれ、芸北町枕集団から見出されたハプロタイプYはクレードIに属する。系統樹の枝の上の数値は10,000反復ブートストラップ確率を示す。(Honjo *et al.* 2004を改変)



写真1 2003. 5. 7撮影

芸北町枕地区のサクラソウ生育地。サクラソウ保護のために立てられた柵の中（写真の左側）にサクラソウは生育している。手前には植林された針葉樹がみえる。



写真2 2003. 5. 7撮影

枕地区では、サクラソウは写真中央部を流れる沢沿いの湿った場所に生育している。このような生育環境は、サクラソウ生育地の典型的なものである。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、現地調査の便宜を図って下さった白川勝信博士、表崎崇樹氏、紺野昇氏、柳崎誠子氏にこの場を借りて厚くお礼申し上げます。また、芸北町のサクラソウについて貴重な情報をいただいた児玉集氏、桑田健吾氏に深甚なる謝意を表します。

摘 要

1. 芸北町の枕地区のサクラソウ集団と、児玉集邸の庭で栽培されている木東原由来のサクラソウについて、その由来を推定することを目的として葉緑体DNA変異の解析を行った。
2. 枕のサクラソウ集団と木東原由来のサクラソウは異なる葉緑体DNAタイプ（ハプロタイプ）を示した。
3. 枕集団から見出されたハプロタイプは、これまでの日本全国のサクラソウ集団を対象とした葉緑体DNA変異の調査から見出されていないものであり、系統的には九州の阿蘇に分布するハプロタイプに近縁なものであった。
4. 木東原由来のサクラソウが示したハプロタイプは、埼玉県のサクラソウ集団から見出されているハプロタイプと同じものであった。
5. 以上の葉緑体DNA変異の結果および生育状況から、枕集団は本来の自生である可能性が高く、一方木東原由来のサクラソウは他の地域から持ち込まれたものである可能性が示唆された。
6. 枕のサクラソウ集団と木東原のサクラソウ集団は、地域の遺伝的固有性の保全という観点から別のもとして管理されていく必要がある。

参 考 文 献

- Deguilloux M.F., Pemonge M.H., Bertel L., Kremer A., Petit J. 2003 Checking the geographical origin of oak wood: molecular and statistical tools. *Molecular Ecology* 12: 1629-1636
- 広島県野生生物保護対策検討会 1995 広島県の絶滅のおそれのある野生生物－レッドデータブックひろしま－ 437pp. 広島県環境保健協会 広島
- Honjo M., Ueno S., Tsumura Y., Washitani I., Ohsawa R. 2004 Phylogeographic study based on intraspecific sequence variation of chloroplast DNA for the conservation of genetic diversity in the Japanese endangered species *Primula sieboldii*. *Biological Conservation* 120: 215-224
- 環境庁 2000 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物－レッドデータブック－8 植物 I 660pp. 自然環境研究センター 東京
- Swofford DL 2002 PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.



写真3 2003. 5. 7撮影

芸北町枕地区のサクラソウ生育地では、下草刈りなどにより林床が明るく保たれているため、サクラソウが群生している。写真手前左側のジェネットは、花色が紫色を帯びており、花茎がほかのものに比べて長い。一方、写真右手のジェネットは、花色がやや濃い目のピンク色を呈する。このようにジェネット間では、花卉の色、形、大きさに大きな変異が見られ、ジェネットの識別を目視により行うことが可能である。



写真4 2003. 5. 7撮影

枕地区に生育するサクラソウ。写真5のサクラソウと比べると、花卉のすきまがないタイプであることが分かる。この写真では分りにくいですが、このサクラソウは花卉表面がラメを散らしたように光っているという特徴的な様相を示す。



写真5 2003. 5. 7撮影

芸北町木東原由来のサクラソウ。このジェネットは花卉が細めで花色がやや濃い。

鷺谷いづみ 1998 サクラソウの目 229pp. 地人書館 東京

Washitani I., Kato M., Nishihiro J., Suzuki K. 1995 Importance of queen bumble bees as pollinators facilitating inter-morph crossing in *Primula sieboldii*. *Plant Species Biology* 9:169-176.

Washitani I., Namai H., Osawa R., Niwa M. 1991 Species biology of *Primula sieboldii* for the conservation of its lowland-habitat population: I. Inter-clonal variations in the flowering phenology, pollen load and female fertility components. *Plant Species Biology* 6:27-37.

鷺谷いづみ・矢原徹一 1996 保全生態学入門 272pp. 文一総合出版 東京

矢原徹一・川窪伸光 2002 復元生物学の考え方 種生物学会（編）保全と復元の生物学 223-233. 文一総合出版 東京

2004年10月5日受付；2004年11月12日受理