

生育地外保全による京都府^{あしう}芦生地域の希少植物保護 (中間報告)

芦生生物相保全プロジェクト

京都府

目次

1. 緒言
2. 現地調査の実施
3. 現地株からの種子の採取と育苗
4. 遺伝分析
5. 生育地外保全株の分散管理
6. 活動成果の公表・発信
7. 謝辞
8. 引用文献

1. 緒言

由良川源流域を抱える京都大学芦生研究林(京都府南丹市, 京都丹波高原国定公園核心部)には, アシウスギやブナから構成される温帯林が原生的な状態で保全されている(図 1). 標高 1,000m に満たない丹波高原にありながら, 急峻な溪谷や断崖, 湿地, 痩せ尾根など多様な地形を有していること, 日本海側気候と太平洋側気候の移行帯にあたることなどから, 約 890 種もの多種多様な種子植物が生育する. また, モミジチャルメルソウのように芦生を中心とした分布をもつ準固有種が存在し, 日本海側要素植物の南西限個体群(例: タヌキランやオオバキスミレ)が集中するなど, 芦生は植物地理学上重要な地域としても認識されている (Yasuda & Nagamasu, 1995).



図 1. (a) 芦生研究林内のブナの大木, (b) 落葉樹の樹幹に着生する希少植物ヒナチドリ(ラン科), (c) 由良川沿いの溪流環境, (d) 希少植物のサルメンエビネ(ラン科).

しかし 2000 年前後から, ニホンジカ(以下, シカ)による森林植生の食害が深刻化した (Kato & Okuyama, 2004). 多様な植物に覆われていた下層植生は衰退し, 急速に裸地へと変わっていった(図 2). その後, シカの好まない不嗜好性植物が繁茂することにより, 種多様性の低い単純な植生へと偏向遷移が進んでいる. こうした状況を受け, 芦生生物相保全プロジェクト(京都大学や他研究機関の研究者や本地域の生態系保全に関心をもつ一般の方から構成される任意団体; ウェブサイト: <http://www.forestbiology.kais.kyoto-u.ac.jp/abc/>)は, 森林植生を保護するために芦生研究林と共同で大規模防鹿柵の設置を進めてきた. 2006 年には 13ha, 2017 年には新たに 16ha のエリアを柵で保護できるようになり, 柵内では下層植生が回復して来ている. しかし芦生研究林(約 4,200ha)の大部分の面積は保護区から外れたままであり, 希少植物の多くが依然として減少傾向にある. 特に個体数が少なく存続の危機にある希少植物については, 現地の環境が回復するまで安全な施設で系統保存を行う「生育地外保全」を実施する段階に来ていると考えられた.



図 2. 2006 年の芦生研究林上谷エリアの林床の様子. シカの好まない少数の植物を除いて, 林床から植生が消失し裸地と化している(a: ブナ林, b: 溪畔林沿いの斜面).

2018年6月、京都大学と京都府立植物園の間で「植物多様性保全に関する教育及び研究の連携に関する協定」が締結されたことを契機に、本プロジェクト・京都大学・京都府立植物園による芦生産希少植物の生育地外保全プロジェクトが始動した。折しも、同時期にタカラ・ハーモニストファンドからの活動助成が決定したことで、2018年度は助成金を利用した現地調査や生育地外保全個体群の設立、遺伝分析等を推進できた。本報告書では、2018年度から2019年度前期の期間に、芦生産希少植物の生育地外保全に関してタカラ・ハーモニストファンド活動助成を基に得られた成果を報告する。

2. 現地調査の実施

芦生地域に分布する希少植物のうち、分布地点数が20地点以下になった種を対象として個体数調査を2018年度に4回(7月, 9月, 10月, 11月), 2019年度は5月に1回実施した。7月の調査では、芦生生物相保全プロジェクト・芦生研究林・府立植物園の3組織合同で研究林内の希少植物自生地を視察した。研究林内の上谷エリア(図3a1)では、樹上に着生するツリシユスラン(京都府レッドデータブック 絶滅寸前種)・ヤシヤビシヤク(絶滅寸前種)・ヒナチドリ(絶滅寸前種; 図1b)を確認するとともに、着生樹種や日当たりなど生育地外での栽培に必要な環境条件を記録した。その後は下谷エリア(図3a2)へと移動し、水の染み出る岩壁で氷河期の遺存植物・リュウキンカ(絶滅寸前種)の個体群を確認した。9月, 10月, 11月の調査では、主に夏から秋に開花・結実する希少種(コバトンボソウ(絶滅危惧種), チョウジギク(絶滅寸前種), タヌキラン(絶滅寸前種)などの分布量を由良川本流に沿って調査したほか、結実した個体からは種子の回収を行った。2019年5月の調査では、三国岳周辺(図3a3)においてサルメンエビネ(絶滅寸前種; 図1d)・ヤシヤビシヤク(絶滅寸前種)・ツリシユスラン(絶滅寸前種)の個体数調査を実施した。

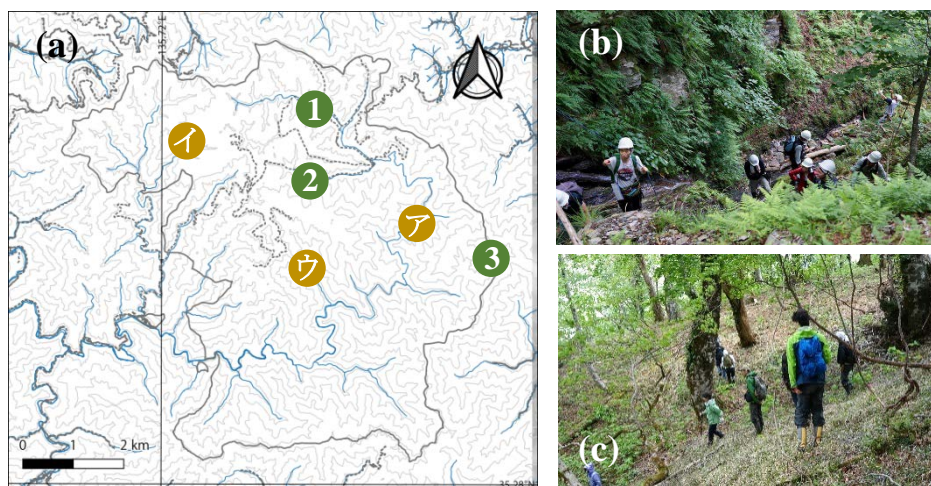


図 3. (a) 芦生研究林内で現地調査を実施した場所(1: 上谷, 2: 下谷, 3: 三国岳)と希少植物の自生場所(ア: タヌキラン, イ: ゼンテイカ, ウ: チョウジギク). 芦生生物相保全プロジェクト・芦生研究林・府立植物園の合同調査の様子(b: 2018年7月下谷エリア, c: 2019年5月三国岳).

これら一連の現地調査及びそれ以前の調査データを検討した結果、希少性・栽培の容易さ・学術的価値・教育的価値の観点から、以下の3種類の希少種をタカラ・ハーモニストファンド助成に基づく生育地外保全の対象種として選定した。

ア) タヌキラン(カヤツリグサ科スゲ属, 京都府レッドデータブック 絶滅寸前種; 図 4a)

北海道南西部から本州中部の多雪地帯に分布する大型のスゲ属植物。京都府内では芦生地域と丹後半島から知られ、これらの産地が本種の分布南西限となっている。芦生研究林内では、由良川本流沿いの 1 か所の岩壁にのみ確認されている(図 3a ア)。約 30m の区間に推定成熟個体数が 30 個体と少ない。シカの採食圧および増水時の水流によって、2012 年時の分布量から大幅に減少していることが判明した。

イ) ゼンテイカ(ススキノキ科ワスレグサ属, 京都府レッドデータブック 要注目種; 図 4b)

国内では北海道から近畿地方北部にかけて分布し、そこから離れて隠岐の島に再び現れる。京都府内では芦生地域を中心に 2 か所の自生地が知られるが、これらが本州における分布南西限個体群である。それぞれの個体群は岩壁に残存しているため、互いに隔離され遺伝的な交流が低下している状態にあると考えられる。芦生研究林内では、中ノツボ谷の断崖に分布しシカの採食を強く受けている(図 3a イ)。

ウ) チョウジギク(キク科ウサギギク属, 京都府レッドデータブック 絶滅寸前種; 図 4c)

東北地方南部から中国地方東部のブナ帯に分布する。多雪地帯の深山の湿った岩場に生える植物で、京都府内では芦生地域と丹後半島に少数の個体群が記録されるのみである。芦生研究林内では、由良川本流沿い及びその支流の七瀬谷(図 3a ウ)に 2016 年時点で 18 ヶ所の自生地が存在したが、2017 年と 2018 年に台風による増水被害に見舞われた結果、2018 年秋には成熟個体数が激減し、七瀬谷を除く自生地では開花する個体がほとんど確認できなくなった。

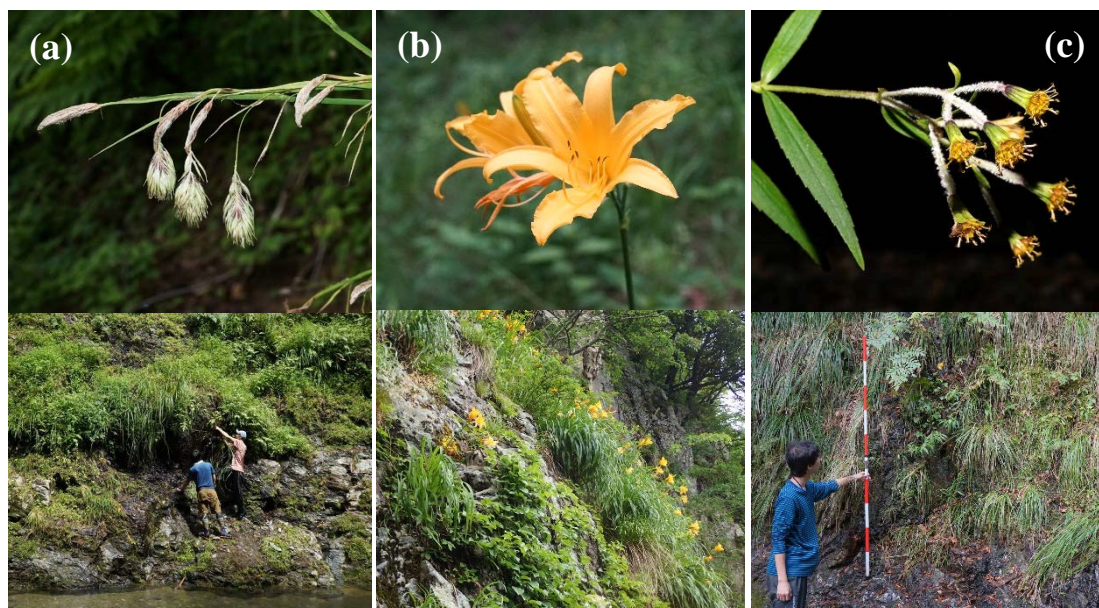


図 4. 生育地外保全事業の対象とした 3 種類の植物(上段)と芦生研究林における自生状況(下段)。(a)タヌキラン, (b)ゼンテイカ, (c)チョウジギク。

3. 現地株からの種子の採取と育苗

2018 年, タヌキラン(由良川沿いの 1 個体群)・ゼンテイカ(中ノツボの 1 個体群)・チョウジギク(七瀬谷の 1 個体群)の野生個体群から, 種子を採取した。タヌキランは 2018 年 5 月に 12 個体の親から, ゼンテイカは 7 月と 8 月に 9 個体から 2 回採取, チョウジギクは 11 月に 13 個体から 2 回採

取を行った(表 1)。得られた種子は京都大学に持ち帰り、未熟なものや種子以外の鱗片組織などを除去して播種実験に用いた。種子の比較的大きなゼンテイカはバーミキュライトに覆土しない状態で播種し、小型の種子を生産するタヌキランとチョウジギクについては、直径 90mm のシャーレに湿らせた濾紙を敷いてその上に種子を播いた。播種後、人工気象器(庫温 25 度一定、日照:午前 7 時から午後 6 時まで蛍光灯照射)内で発芽状況を記録した。発芽の記録期間は、時間経過とともに発芽率が頭打ちになった期間であり、タヌキランは 16 日、ゼンテイカは 42 日、チョウジギクは 16 日であった。

表 1. 生育地外保全を実施した 3 種の希少植物について、野外採取の種子を播種して育苗する過程での発芽率・生存率・開花率を示す。

対象種	種子を採取した親個体の数	播種した種子の数	発芽率 (100x 発芽種子数 / 播種数)	生存率 (100x 生存苗数 / 得られた苗数)	開花率 (100x 開花苗数 / 得られた苗数)
タヌキラン (絶滅寸前種)	12 個体 (2018 年 5 月 20 日採取)	569 粒	91.6% (→2018 年度末の時点で 180 株の苗を鉢上げ, うち 13 株は交雑由来)	99.4% (2019 年 6 月時点. 交雑由来の個体を除いた 163 個体が生存)	18.0% (2019 年 6 月 21 日時点. 交雑由来の個体を除いた 30 個体が開花)
ゼンテイカ (要注目種)	9 個体 (2018 年 7 月 15 日, 8 月 5 日採取)	254 粒	55.1% (□7 月採取種子は 84.5%, 8 月採取は 17.1%) (→2018 年度末の時点で 139 株の苗を鉢上げ)	97.1% (2019 年 5 月 1 日時点)	0% (2019 年 6 月 21 日時点)
チョウジギク (絶滅寸前種)	13 個体 (2018 年 11 月 6 日, 11 月 11 日採取)	110 粒	38% (→2019 年 3 月 14 日の時点で 7 親に由来する 42 株の苗を鉢上げ)	57.1% (→2019 年 5 月 1 日の時点で 24 株の苗が生存)	38.0% (→2019 年 6 月 21 日の時点で 16 株の苗が着蕾)

ア) タヌキラン

播種した成熟種子 569 粒のうち 521 粒が発芽した。極めて高い発芽率(91.6%)であったため、

発芽全個体を鉢上げすることは諦めて 180 株を 10 月に 2.5 号ポット(バーミックス単用)に移植した(図 5a). 後述の遺伝分析により, この 180 株の中には野生条件下でタヌキランと同属別種の交雑に由来する雑種個体が 13 株含まれていることが判明した. タヌキラン同士の交配で生じた苗 167 株は屋外圃場において腰水状態で越冬させて栽培を継続したところ, 2019 年 4 月に 30 株(18%)が開花に至った. また生存率も 99.4%と非常に高く, タヌキランは域外環境での栽培が容易な植物であることが示された.

イ) ゼンテイカ

播種した計 254 種子の発芽率が 55.1%となった. ただし, 果実が裂開し始めた 7 月に採取した種子については 84.5%と高い発芽率を記録したのに対し, 8 月採取種子では発芽率が 17.1%にとどまった. 後者では果実が裂開してから時間が経過しているため, 残っていた種子は生存力の低いものが多かった可能性や, 真夏の高温乾燥にさらされたことで種子休眠が誘導されて発芽が抑制された可能性が考えられる. いずれにしても 7 月採取の種子では発芽成績がよかったことから, ゼンテイカの育苗においては, 成熟後早い段階で採取した種子を取り播きするのが適切であろう. 発芽した苗は成長を促進するため, 2018 年~2019 年の冬季も人工気象器の中で栽培を継続し, 2019 年 5 月からは 3.5 号ポット(鹿沼土 5:赤玉土 4:パーライト 1 の混合用土)に移植して屋外圃場で管理した(図 5b). 2019 年 6 月の時点で開花に至った個体はなかった.

ウ) チョウジギク

播種した 110 粒の 38%が発芽し, そのうちの生育が良好だった 42 株をバーミキュライト単用用土で 2.5 号ポットに鉢上げして人工気象器のなかで育苗した(2019 年 3 月). その後, 人工気象器中でさび病様の感染症状が葉に現われ, 衰弱枯死する個体が出てきたため農薬(ベンレート水和剤)を散布して殺菌処理を行った. 屋外の最低気温が上昇した 5 月には, 生き残った 24 株を圃場に移動させ腰水の状態で管理したところ, 6 月 21 日の時点で 16 株に着蕾が確認された(図 5c). チョウジギクは本来 9-10 月に開花する秋季咲き植物であるが, 冬季の低温もしくは短日条件を経験しない条件下では, 個体の成長に伴って随時開花する性質があることが判明した. また, 病気にさえ注意すれば腰水栽培で容易に育苗できること, 発芽から半年程度で開花することなど, 本種も生育地外保全に向けた植物であることが示された.

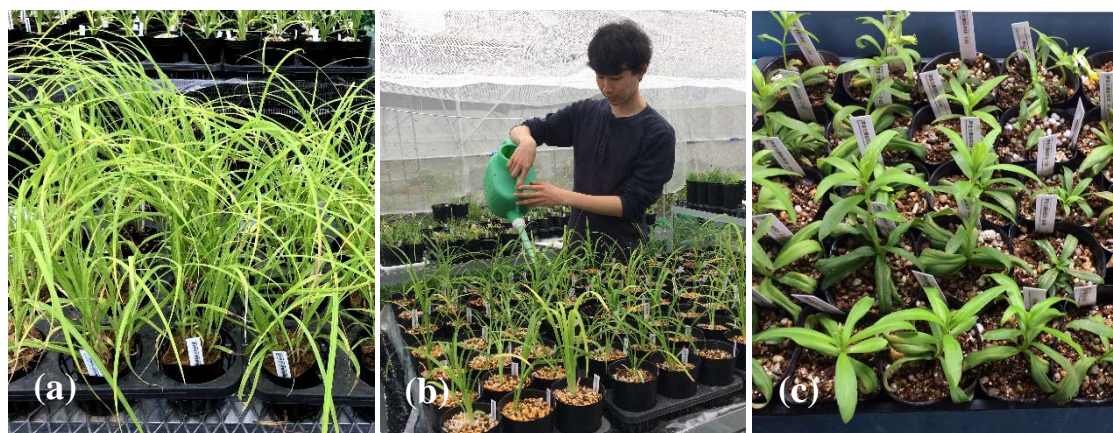


図 5. 京都大学に設置した圃場での保全個体群の栽培状況(a:タヌキラン, b:ゼンテイカ, c:チョウジギク).

4. 遺伝分析

一般に、植物の生育地外保全を行う施設では、個々の種の栽培に割けるスペースや労力には限界がある。そのため野外個体群の遺伝的多様性を十分に反映した個体を選抜し、コアコレクションとすることが多い。コアコレクションを作るためには野生個体群の遺伝的多様性を評価し、それを栽培個体群と比較することで栽培個体数と遺伝的多様性の関係を推定する。また限られた親株に基づいて栽培個体群を作る場合には、種子親の家系構造が個体群の遺伝的組成に反映されやすい(血縁関係にある個体が含まれやすい)。そのため栽培個体群の近交化を防ぐためには、遺伝マーカーを用いた遺伝的多様性の評価が不可欠であり、そうした評価に基づいて初めて、追加で種子採取を行う等の順応的管理が可能となる。加えて芦生研究林の希少植物の多くは、種の分布の辺縁部に位置する個体群となっている。分布南限の個体群の個体群サイズは減少しやすく、他地域の個体群から隔離されやすいため、独自の遺伝的構成をもった個体群になっている可能性がある。芦生地域の個体群の栽培管理を他地域の個体群から分けるべきかどうかは、芦生産個体群の遺伝的固有性の程度に依存する。

このように生育地外保全を科学的知見に基づいて実施するためには、野生および保全個体群の遺伝的特徴が明らかになっていることが条件となる。個体レベルの遺伝的多様性を評価する目的では、ゲノム中の反復配列数の変異を調べるマイクロサテライト分析が多用される。マイクロサテライト領域は突然変異率が高く、対立遺伝子が多数存在すること、PCR 増幅と電気泳動を組み合わせることで再現性の高い分析を行えるという特長がある。今回の遺伝分析においては、マイクロサテライト分析の中でも特に安定した結果が得られる EST-SSR マーカー(発現遺伝子断片に含まれるマイクロサテライト領域)を用いて、個体群の遺伝的特徴を評価することとした。

ア) タヌキラン

近縁種であるヤマタヌキランで開発された 20 座の EST-SSR マーカー(Nagasawa *et al.*, 2018)のうち、タヌキランにおいて多型が確認された 16 マーカーを分析に使用した(マーカー名: Cang_4293, Cang_4398, Cang_46532, Cang_1881, Cang_10657, Cang_7187, Cang_18857, Cang_3069, Cang_5849, Cang_1267, Cang_7261, Cang_2073, Cang_3862, Cang_19507, Cang_681, Cang_25819)。芦生研究林における現地調査から得た野生株 12 個体に対して解析を行ったところ、個体群内の 12 個体すべてが同じ遺伝子型を示した。また、個体レベルでの遺伝的多様性については 16 遺伝子座すべてでホモ接合しており、集団レベルだけでなく個体レベルでも遺伝的多様性が完全に失われていた(ヘテロ接合度の期待値 0.00)。さらに、他地域の個体群との比較を行ったところ、長野県および京都府丹後半島の個体群においては、それぞれ遺伝的多様性を保持していることが判明した(ヘテロ接合度の期待値;長野県の個体群 0.47, 丹後半島の個体群 0.13)。この結果から、タヌキランの種特性として低い遺伝的多様性を示したわけではなく、芦生研究林に隔離されたタヌキラン個体群が多様性を二次的に失ったことが示された。また、遺伝距離に基づく主座標分析の結果からは、芦生の集団が、地理的に遠く離れた長野県の個体群だけでなく、府内の丹後半島の個体群との間でも遺伝的に分化していることが示された(図 6a)。以上から、芦生地域のタヌキランは他地域から隔離され続けたこと、近縁な個体間で交配を繰り返して遺伝的多様性を減少させたことによって、遺伝的固有性を増大させたことが示唆された。

次いで、芦生産の野生個体から採取した種子に由来する栽培個体(180 個体)について、前述の 16 マーカーのうち 10 マーカー(タヌキラン bin set panel=Cpod_S2)を用いて遺伝子型を決定した。

野生個体群で遺伝的多様性が失われていたことから予想された通り、野外種子由来の 180 個体の苗の大半(167 個体)が野生個体と同じ遺伝子型であった。ところが、13 個体の実生からは他の実生個体とは異なる 4 つの遺伝子型が見つかった。これらの遺伝子型は、解析したほとんどの遺伝子座でヘテロ接合になっており、芦生産の野生個体群で見られない方の対立遺伝子は、他地域のタヌキランからも検出されなかったことから、これらの実生はタヌキランと同属他種との間で起きた交雑に由来する個体であることが推察された。雑種の片親の決定についてはさらなる遺伝分析が必要となるものの、現地での分布状況や形態の観察から、タヌキランとハビタットが類似し側所的に生育することのあるナルコスゲが花粉親であることが推察された。タヌキランとナルコスゲとの間の雑種はタヌキナルコとして知られているものの、芦生では今まで確認されていない。また、現地では雑種らしき個体が確認されていないことから、自然条件下では何らかの要因で実生個体が生存できなくなっていることが推察される。興味深いことに、遺伝分析から雑種と判定された個体のなかには、芽出し直後の葉において葉緑素が線状に抜けるものが含まれていた(図 6b)。こうした現象は、異種間交配で生じた雑種の適応度が低下することに関係する可能性があり、また純粋な芦生産タヌキラン系統を遺伝子汚染する可能性もあるため、保全個体群から隔離して管理する必要があると考えられた。

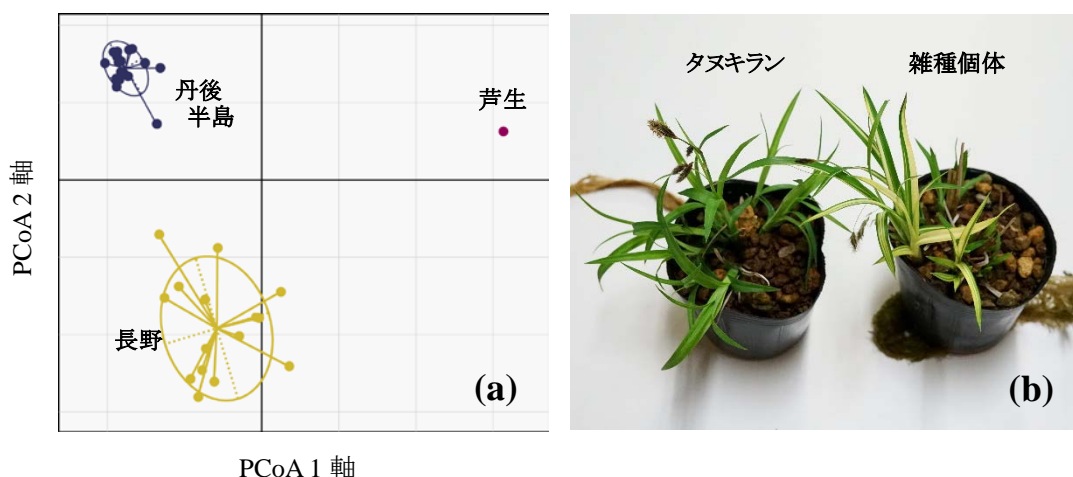


図 6. (a) 主座標分析によるタヌキランの地域個体群の遺伝的分化。主座標平面の第 1 軸上で芦生●とそれ以外の個体群(丹後半島●と長野県●)が分離している。(b) 同じ親から得た 2 個体の実生。左側が純粋なタヌキラン、右側は遺伝分析で雑種と判定された個体。雑種個体の葉は、斑入り様に葉緑素が抜けた部分がある。

イ) ゼンテイカ

ゼンテイカでは既存のマイクロサテライトマーカーが存在しなかったため、同属の *Hemerocallis lilioasphodelus* の葉で発現している遺伝子断片データ(SRA: SRS3135094)に基づいて 12 遺伝子座分の EST-SSR マーカーを新規に開発した(表 2; Masuda *et al.*, in prep.a)。芦生研究林内の中ノツボで採取した 20 株の野生成熟個体についてこのマーカーで分析を行ったところ、遺伝子座あたりの対立遺伝子数が平均 4.9 個、ヘテロ接合度の期待値が平均 0.459 となり、草本植物としては比較的高い値が推定された。野生個体群の中での近交係数(F_{IS})は遺伝子座平均で-0.007 となり、

個体間でほぼランダムに交配が起こっていることが示された。本種では前述のとおり保全個体群を創設することに成功したが、この個体群についてはまだマイクロサテライト分析が完了していない。今後、野生の親世代と保全個体群の遺伝的多様性の特徴を比較することで、保全個体群の管理計画を立てていく予定である。

表 2. ゼンテイカの生育地外保全を行うために新規開発した EST-SSR プライマーペアの塩基配列、反復モチーフ、対立遺伝子長のレンジを示した (Masuda *et al.*, in prep.a)。

遺伝子座名	プライマー配列 (5'-3')	反 復 モチーフ	対立遺伝 子長 (bp)
Hem_9908	F: CACGACGTTGTAACGACTCTTCTTACCGCCCTCACC R: GTTCTTCCCTAACCTAATTGCTGCG	(AG) ₁₄	108-134
Hem_19237	F: CTATAGGGCACGCGTGGTCCCTCCACCTCCATCACATAG R: GTTCTTTGAGAGGCAGCCACAAGAAG	(ATC) ₁₃	179-191
Hem_22892	F: CGGAGAGCCGAGAGGTGCCGAAGCTCAGCACCAATC R: GTTCTTTGCACCTACCTGATTAAACGG	(AG) ₁₈	170-242
Hem_4415	F: CTATAGGGCACGCGTGGTGTCCACCTTCGCCTCTTAC R: GTTCTTAGGATTCTAAGTGGGTCTTGC	(AG) ₁₂	219-243
Hem_1628	F: CACGACGTTGTAACGACGCTGTAATCCCTGTACTGC R: GTTCTTGGACCTACCGAAGAAGAACC	(AAG) ₁₀	276-303
Hem_15949	F: CTATAGGGCACGCGTGGTGGGCCTGTTATCCTCCTCAG R: GTTCTTTGGGACTGGGCATAGGAAAC	(ATC) ₁₃	295-324
Hem_15494	F: CACGACGTTGTAACGACAAAGGAGTTGATGAAGCCGC R: GTTCTTCTTCCACCATCCGCTCTTTC	(AAG) ₂₁	203-248
Hem_15895	F: TGTGGAATTGTGAGCGGACAAGCAACATGGAGGTCTC R: GTTCTTGGGTCAAGAAAGAAGAAAGCAC	(AG) ₁₅	400-450
Hem_19141	F: TGTGGAATTGTGAGCGGACTCTGCCCAACATTTATACCA R: GTTCTTTCAAAAATCCTACAGGAATGAACA	(AGC) ₁₂	201-266
Hem_5161	F: CTATAGGGCACGCGTGGTACCACGCCCACTATTCAAC R: GTTCTTAAACGATGCCACAGAAATCCG	(ACT) ₁₃	403-457
Hem_7542	F: CACGACGTTGTAACGACGCTCCTCCAGTCACATGAAA R: GTTCTTCTTCAACCTGAGCCTCTGA	(AT) ₁₃	155-198
Hem_19522	F: CACGACGTTGTAACGACTTCTTGCCTCTGGTGGTC R: GTTCTTCTCTCTCGATTCCAGGCG	(ATC) ₁₀	185-217

次いで他地域の個体群との比較を行うために、北海道旭川市、長野県諏訪市、芦生から約 10km 離れた京都市久多の 3 地点からゼンテイカを採取し、上記 EST-SSR マーカーで分析し遺伝子型を決定した。個体群間の遺伝的関係を表現するために主座標分析を行うと、北海道・長野県の個体群から京都府の個体群が明瞭に分化していることが明らかになった (図 7)。さらに京都の 2 個体群に関しても芦生と久多の間で遺伝的分化が認められた。この 2 個体群は地理的には近い

位置に生育しているが、異なる水系の源頭部に隔離されているため遺伝的な交流が途絶えているものと考えられる。京都府立植物園ではこれら 2 個体群の生育地外保全を予定しているが、個体群の固有性を保持するためには栽培場で苗の由来を識別して管理する必要がある。

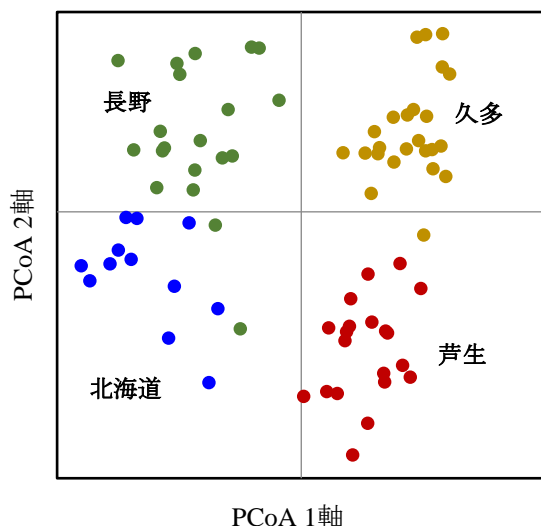


図 7. 主座標分析によるゼンテイカの地域個体群の遺伝的分化. 主座標平面の第 1 軸上で京都府の 2 個体群(芦生●と久多●)と北方の個体群(北海道●と長野県●)が分離されている. 府内の 2 個体群は第 2 軸上で分化し, 2 軸スコアの大きい領域に久多の個体, 小さい領域に芦生のゼンテイカがプロットされている.

ウ) チョウジギク

チョウジギクにおいては既存の遺伝マーカーが利用できず, 遺伝子発現データも公開されていなかったため, 新規に葉から抽出した全 RNA を次世代シーケンサーで網羅的に解読を行って EST-SSR マーカーの開発を行った. 2019 年 6 月末の現時点で, 複数産地の個体に対して安定して PCR 増幅が可能な 16 座のプライマーペアを選抜しており, これに基づいて芦生産の野生個体群の遺伝的多様性の評価と他地域個体群との関係性を分析した. EST-SSR マーカーの遺伝子座名, プライマー配列, 反復モチーフ, 検出される対立遺伝子長のレンジは以下の表 3 に示している (Masuda *et al.*, in prep.b).

表 3. チョウジギクの生育地外保全を行うために新規に開発した EST-SSR プライマーペアの塩基配列, 繰り返しモチーフ, 対立遺伝子長のレンジを示した (Masuda *et al.*, in prep.b).

遺伝子座名	プライマー配列 (5'-3')	反復モチーフ	対立遺伝子長 (bp)
Ar10265	F: CGGAGAGCCGAGAGGTGCACAAGGTGTACAGGAAGCG R: GTTTCTTAAGCACACCGTACCTAAGGC	(AT) ₂₅	279-336
Ar10317	F: TGTGGAATTGTGAGCGGGGATCTCTGTGCTGCGTTTC R: GTTTCTTGCTGTTCATCATAACAACGACAC	(ATC) ₁₂	125-146
Ar10332	F: TGTGGAATTGTGAGCGGCATGTTCTCCATTGAAGAAGC R: GTTTCTTTCAACGCTTGTGACTCTTGC	(ATC) ₁₂	378-387
Ar10397	F: CACGACGTTGTAAAACGACAGGATCTGTGAAGAGACGGG R: GTTTCTTCTCACTAGACCGCCAGACC	(AG) ₁₉	243-267
Ar15054	F: CTATAGGGCACGCGTGGTACCACCCGCTACCAAGTAAC	(AT) ₁₄	259-263

	R: GTTCTTTTGC GCGAAGATCAAAGAGC		
Ar1548	F: TGTGGAATTGTGAGCGGACGTTAAATGGCAAGTTGATCG R: GTTCTTTGATCACAACCATATACCGGC	(AT) ₉	353-355
Ar16393	F: CTATAGGGCACGCGTGGTCAGGGTCTTTGCCTTCTTCC R: GTTCTTATGGGTGCAAGAAGGTTTAC	(AAT) ₁₆	178-220
Ar18013	F: CACGACGTTGTA AACGACAGTGGCCAAAGAAACGAAAG R: GTTCTTGCTTTCATCCTTCCCGTTCC	(AT) ₁₄	276-302
Ar18777	F: TGTGGAATTGTGAGCGGAAGCTTGCCCTCCTTCCTTC R: GTTCTTACAGCTGGCAGTTTCATCATC	(ACC) ₈	356-362
Ar21935	F: TGTGGAATTGTGAGCGGCGCAGGTGAAGTAAACGAGG R: GTTCTTAGGTATGGAATCAGGGAGTCC	(AT) ₂₀	207-233
Ar265	F: CTATAGGGCACGCGTGGTTCCTTCGTCAGCATCCTC R: GTTCTTGTC AACCATCCGCATTTCCC	(AAT) ₁₃	233-249
Ar3103	F: CTATAGGGCACGCGTGGTGCCTTGCCTGTAGATGATCAAG R: GTTCTTCAGACTCATCAGGGCTGTTG	(ATC) ₁₀	350-356
Ar31540	F: CTATAGGGCACGCGTGGTTCAGCCAAGCACACTCCTTC R: GTTCTTGTTTGCTGGCCACATTTGAG	(AG) ₁₄	165-171
Ar3238	F: CTATAGGGCACGCGTGGTATTCTTTGGGTCTGCATGGC R: GTTCTTTAGGGAGCCGTTCAATTCAG	(AT) ₁₃	340-356
Ar45093	F: TGTGGAATTGTGAGCGGTTGCTTCATCGACACCATCC R: GTTCTTCTGCAAGTCAACTCTCCAGC	(ATC) ₁₂	207-240
Ar4525	F: CTATAGGGCACGCGTGGTAAGCAATCTCAAACACCCATTC R: GTTCTTGTTTCATCGAGCAACACCACC	(AT) ₉	364-377

芦生研究林内の七瀬谷と由良川本流沿いの自生地からチョウジギク 12 試料を採取し、上記 16 遺伝子座の多型を調査したところ、遺伝子座あたりの平均対立遺伝子数は 2.5 個、ヘテロ接合度の期待値は 0.319 と推定された。ヘテロ接合度を指標として芦生産チョウジギクの遺伝的多様性を他地域と比較すると、長野県北安曇郡(0.575)や石川県白山市(0.463)よりも低く、芦生のさらに西方に位置する岡山県苫田郡(0.325)と同程度のレベルであることが判明した。今後、分析個体群の数を増やして検討を重ねる必要があるが、芦生のチョウジギク個体群は分布の中心部から離れているため遺伝的浮動の影響を受けやすく、それにより多様性が低下した可能性がある。

図 8 には、4 地域のチョウジギク個体群の遺伝的関係を表した主座標分析の結果を示している。赤い点で示した芦生産のチョウジギクは、北陸の 2 個体群(長野・石川)・岡山の個体群から明瞭に区別されることが判明した。この傾向はゼンテイカとも共通するものであるが、個体群間の分化の程度はチョウジギクの方が大きい。チョウジギクは多湿な岩場に小さな個体群として生育することが多く、個体群間で遺伝的交流が起りにくかった可能性や、冠毛をもつ種子を散布することから新しい生育場所に侵入しやすく、それによって創始者効果を受けて分化しやすかった可能性が考えられる。また、一般的には植物の遺伝構造は個体群の地理的な位置を反映することが多いが、図 8 の座標付けでは芦生よりも岡山県の個体群の方が北陸の 2 個体群に近い遺伝的組成であること

が示されている。分布の南西部に位置する芦生と岡山の個体群では、遺伝的浮動の影響が表れやすいと考えられるため、地理的な距離とは関係なく系統分化が進行している可能性がある。今後、解析する個体群を増やしてチョウジギクの種内の系統構造を解明することで、この可能性を検証する必要がある。

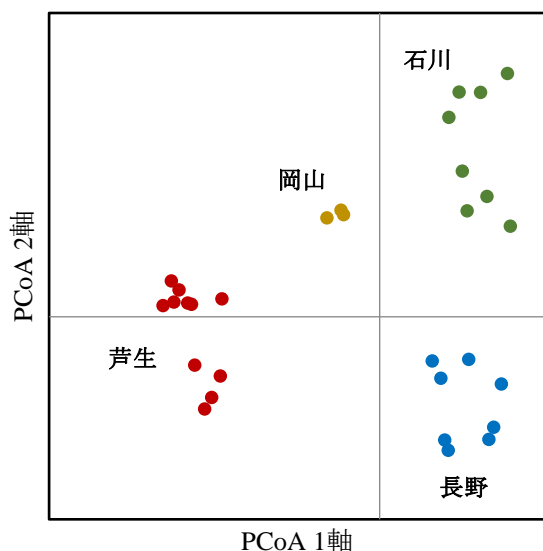


図 8. 主座標分析によるチョウジギクの地域個体群の遺伝的分化。主座標平面の第 1 軸上で、芦生個体群(芦生●)と北方個体群(石川県●と長野県●)および岡山産個体群(●)が分離している。

5. 生育地外保全株の分散管理

2019年6月の現時点において、タヌキランについては種子から育成した実生苗の遺伝分析が完了している。その結果、実生苗 180 個体のうち 13 個体がタヌキランと同属他種の雑種第一代であると推定されたことから、これらの 13 個体を除いた 167 個体を生育地外保全個体群として定義した。通常の選抜プロセスでは、野外個体群と保全個体群の遺伝的多様性を比較しコアコレクションを選定することになるが、芦生産タヌキランについては親世代ですでに多様性が喪失していたことから、遺伝分析に基づいて選抜を行うことができない。そのため、種子を採取した 12 親につき実生苗 3 個体ずつ(合計 36 個体)を暫定のコアコレクションとして定義し、京都府立植物園の管理下に移すことになった(図 9)。残りの苗は、京都大学の圃場で栽培管理されており、本年度中にその一部を京都大学芦生研究林等でも分散管理することを検討中である。



図 9 京都府立植物園内にある絶滅危惧植物温室にて、タヌキランのコアコレクション(遺伝分析の結果に基づいて選抜した実生個体群 36 個体)を京都府立植物園に移譲した(2019年4月16日)。個体が植えられている鉢には、苗の由来や遺伝分析の結果に紐づけられた管理ラベルが付与されている(写真中の白色ラベル)。

残りの対象種(ゼンテイカとチョウジギク)については、野生の親世代で遺伝的多様性が残されていることが判明しているため、保全株の遺伝的多様性を慎重に評価してコアコレクションを定めていく必要がある。

6. 活動成果の公表・発信

ア) 一般向けパンフレットの作成

芦生産希少植物の生育地外保全を一般向けに解説したパンフレットを芦生研究林が作成し、講演会等の機会に配布している。パンフレットでは、芦生の希少植物が置かれた現状や保全を行う根拠、一般の方が保全プロジェクトに協力する方法などが分かりやすく解説されている(図 10)。



図 10. 芦生研究林発行の生育地外保全プロジェクトを解説したパンフレット。

イ) 講演会の開催

2018年8月26日、京都府立植物園において芦生生物相保全プロジェクト公開成果報告会「芦生の森で考えるシカと森の大問題」を開催した(図 11 左)。シカが森林生態系に及ぼす影響について植生や魚類、昆虫などの専門家が解説を行い、保全の取り組みとして希少植物の保全活動についても紹介を行った。会場には約 120 名の参加者が集まり、活発な意見交換が行われた。

2019年3月10日には、京都丹波高原国定公園ビジターセンター(京都府南丹市美山町)においてワークショップ「希少植物種の今とこれから～美山における希少植物種保全の取り組みを例に～」を開催した(図 11 右)。このワークショップでは、希少植物の生育地外保全プロジェクトを地域住民の方に紹介し、今後それらをどのように利活用していくかを考えることを目的とした。当日は、自然に関心のある地域住民など約 40 名の参加があった。



図 11. 京都府立植物園にて 2018 年 8 月 26 日開催した成果報告会の広報用ポスター(左)と、京都丹波高原国定公園ビジターセンターにおいて 2019 年 3 月 10 日に開催した地元向けのワークショップの広報用ポスター(右)。

7. 謝辞

本活動は、公益信託タカラ・ハーモニストファンド(平成 30 年度助成)のご支援を受けて実施することができましたので、ここに感謝の意を表します。希少植物の現地調査にご協力頂いた京都大学 芦生研究林, 生育地外保全株の栽培にご協力頂いた京都府立植物園には厚く御礼申し上げます。石原正恵准教授(京都大学), 瀬戸口浩彰教授(京都大学), 長澤淳一教授(京都府立大学), 井鷲裕司教授(京都大学), 徳地直子教授(京都大学), 吉岡崇仁教授(京都大学), 中川光博士(京都大学), 堀江健二博士(旭川市北邦野草園), 岩崎貴也博士(神奈川大学), 平田有加氏(奈良市)ほか, 多くの方々に格別のご支援とご協力を賜りましたので御礼申し上げます。

本報告書で使用した写真は, 図 1b, c と図 4b 下が福本繁氏(大津市), 図 2: 藤木大介准教授(兵庫県立大学), 図 5a: 長澤耕樹氏(京都大学), それ以外は阪口翔太(京都大学)による撮影です。図 1a の地図は山崎理正博士(京都大学)のご厚意で編集・使用させて頂きました。これら資料をご提供頂いた方々に御礼申し上げます。

8. 引用文献

- ・ Kato, M. & Okuyama, Y. (2004) Changes in the biodiversity of a deciduous forest ecosystem caused by an increase in the Sika deer population at Ashiu, Japan. *Contr. biol. Lab. Kyoto Univ.*, 29: 437-448
- ・ K. Nagasawa, Setoguchi, H., Maki, M., Goto, H., Fukushima, K., Isagi, Y. and Sakaguchi, S. (2018) Development and characterization of EST-SSR markers for *Carex angustisquama* (Cyperaceae), an extremophyte in solfatara fields, *Applications in Plant Sciences*, doi: 10.1002/aps3.1185
- ・ Yasuda, S. & Nagamasu, H. (1995) Flora of Ashiu. *Contr. biol. Lab. Kyoto Univ.*, 28: 367-486