

## 論文の内容の要旨

生圏システム学専攻  
平成14年度 博士課程進学  
氏名 下野綾子  
指導教官名 鷲谷いづみ

論文題目 Spatiotemporal dynamics of soil seed banks and interactions with  
aboveground populations of *Primula modesta* in subalpine grasslands  
(亜高山帯草原におけるユキワリソウの  
土壌シードバンクの時空間的動態と地上個体群との相互作用)

### 1. 序論

現在、生息・生育地の破壊、外来種の蔓延、乱獲・過剰採集、環境汚染などの人為的環境改変により、生物多様性の急速な低下が進行しつつある。それは今後の気候変動によってさらに加速されることが危惧されており、その実態把握と対策は環境保全のための重要な課題として認識されている。特に高山帯においては、温暖化が種・個体群や植生に大きな影響を与えると予想されており、適切な監視システムの構築が喫緊の課題となっている。そのような監視には、代表的な種を取り上げ、個体群の動態を物理的環境因子の変化とあわせて定期的に調査することが有効であると考えられる。

しかし、植物個体群については、そのような監視の基礎となる個体群動態のデータを十分な精度で取得し、予測につなげることは必ずしも容易ではない。個体群を構成する個体の多くが土壌シードバンクとして地下に存在するからである。一般に、土壌シードバンクは個体群の維持においてきわめて重要な役割を果たしていると考えられているが、土壌中の種子を追跡することが困難なため、その動態を地上個体群との相互作用を含めて定量的に評価した例はごく限られている。またそれもほとんどが人為的に播種した種子の動態を追跡したものであり、土壌シードバンクへの種子加入の時空間的パターンが捨象されているため、必ずしも自然の動態を反映するものではない。土壌シードバンク動態の把握のためには、加入から実生発生までの全プロセスを、できるかぎり自然の状態で定量化

する必要がある。

本研究では、今後の山岳環境の変化が高山植物に及ぼす影響を監視する対象種として、高山植物ユキワリソウ（サクラソウ科サクラソウ属）を想定し、その基礎的な個体群動態のモデル化に向けて、土壌シードバンク動態の時空間的変動を含む定量化を試みた。すなわち、現地における生活史特性の定量的把握、発芽実験、最新のDNA解析技術を用いた種子の空間構造の解析など、多様な手法を活用し、種子生産から実生の定着にいたる土壌シードバンクの時空間的動態と地上個体群との相互作用を明らかにした。

ユキワリソウは中部の山岳を中心に比較的普通にみられる異型花柱性の多年生草本である。確率的な要因の影響を受けやすい希少種とは異なり、普通種の個体群動態には、環境変化の影響がより明瞭に反映すると考えられる。また地表面に無性芽を形成する小型のロゼット型植物であり、個体の認識や動態の追跡が比較的容易である。

調査は長野県浅間山の亜高山帯で行った。生育環境の要因を広く評価できるよう対照的な2つのタイプの生育場所—①平坦で植被のまばらな湿地草原（湿地）および②南西斜面に面する植被の高い高茎草原（草地）—を選定した。

## 2. 土壌シードバンクの加入を決定する種子生産

本章では土壌シードバンクへの加入の時空間的パターンを把握するために、種子生産の年変動および空間的変動を4年間にわたって調査した。また、種子生産を制限する内的（個体サイズ）および外的要因（ポリネーター、気候条件、食害、病害など）とその影響を調査した。

2001年5月に両調査地に0.5×0.5mのコドラートを10個設置し、出現したすべての個体の位置を地図化し、サイズ指標として休眠芽の直径を計測した。開花の有無および着花数は個体サイズに強く依存していた。雪解けが早く生育期間の長い草地の個体群は湿地に比べて平均的な個体サイズが大きく、個体あたりの着花数、花あたりの胚珠数が有意に多かった。

2000-2003年の種子生産は、早い雪解けによる凍害が疑われた2002年の湿地を除いて、結果率（60-80%）および結実率（S/O比：40-60%）は概して高かった。

開花期には、ビロードツリアブおよびネウスオドリバエによる比較的頻繁な訪花が認められ、人工授粉と放任授粉の花との間で種子生産に有意差が認められなかったことから、種子生産に対する花粉制限は生じていないと判断された。

開花個体の空間パターンの年変動は比較的小さく、湿地および草地の直下の土壌シードバンクへの加入はそれぞれ2000-6000 m<sup>2</sup>および5000-10000 m<sup>2</sup>であり、土壌シードバンクは開花個体の位置に依存してパッチ状に分布することが推測された。

## 3. 実生の出現と休眠・発芽特性

本章では種子の時空間的動態を強く支配する内的要因である生理的な休眠・発芽特性

を把握した。あわせて現地における実生の出現パターンを調査し、発芽季節、発芽セーフサイト、発芽・実生定着に及ぼす親個体や環境の効果について検討した。

2000 および 2001 年に生産された種子を 8-9 月に採集し、室温保存又は冷湿保存した後、一定温度および 12 時間交代の変温条件（明期/暗期：12h/12h および暗期：24h）で発芽実験を行い、発芽特性を把握した。また 2001 および 2002 年に現地における実生の出現時期、出現数、出現場所を調査した。

種子は冷湿処理により発芽率、発芽速度ともに高まり、春発芽に適した休眠・発芽特性をもつことが示された。それに相応し、現地における実生の出現は 5 月下旬から 6 月中旬にピークを示した。2 年間の出現実生数は、湿地で 200-400 m<sup>2</sup>、草地で 10-30 m<sup>2</sup> であり、土壌シードバンクへの加入量が同等であるにも関わらず出現実生数に大きな違いが見られた。出現実生のミクロレベルでの空間的不均一性には開花個体の位置とリター量が大きく影響していた。暗条件下で種子はほとんど発芽しないことから、植被が発達している草地で実生が少なかったことの一因は、リターの量が多く、光条件の良い発芽セーフサイトが少ないことであると考えられた。

#### 4. 土壌シードバンクの時間的動態

本章では土壌シードバンクと地上個体群との間の 1 年間のフロー（土壌シードバンクのうち実生として出現する割合、永続的シードバンクとして翌年に持ち越される割合、生産種子のうち土壌シードバンク中に取り込まれる割合）を明らかにした。

2002 年 4 月の実生出現前に両調査地に 2.5×5.5 m のコドラートを設け、このコドラートを 0.5m の格子状に分割し、その交点 40 点から直径 5cm・深さ 5cm の円柱形の土壌を採集し、実生発生法により土壌中の生存種子を調査した。新たな実生出現が見られなくなる 2002 年 8 月（種子散布前）と 2003 年の 4 月に同様の調査を繰返した。あわせてコドラート内の出現実生数を調査した。また、前年の開花ラメット数から散布された種子量を推定した。

2002 年の 4 月に採取した土壌には湿地では約 2700 m<sup>2</sup>、草地では 1300 m<sup>2</sup> の生存種子が含まれていた。湿地では生産種子のほとんどが土壌中にとりこまれ、そのうちの約 28% が永続的シードバンクに、約 13% が翌春実生として発生すると推定された。それに対して草地では生産種子の 20% のみが土壌中にとりこまれ、そのうちの 66% が永続的シードバンクにとどまり、0.2% が実生になると推定された。

#### 5. マイクロサテライトマーカの開発

本研究では土壌シードバンクの空間構造を把握するために、多型性の高い遺伝マーカであるマイクロサテライトマーカの開発を行った。

磁性粒子を用いてマイクロサテライトを濃縮し、マイクロサテライト濃縮ゲノミック DNA ライブラリーを構築した。マイクロサテライトを含む DNA 断片のシーケンスに

基づいて、相補的な PCR プライマー組を設計した。開発された 11 座のマイクロサテライトマーカーを使用して浅間山のユキワリソウ 31-35 個体の遺伝子型を決定した。1 遺伝座あたりの対立遺伝子数  $N_a$  は 3-14、ヘテロ接合度の観察値  $H_o$  は 0.161-0.828 で、1 座を除きハーディーワインベルグ平衡を仮定して算出した期待値との有意なずれは見られなかった。

## 6. 土壌シードバンクの空間的動態

本章では、土壌シードバンクの空間的構造を地上の成熟個体の分布と関連づけて理解するために、土壌の深さ別に採集した土壌シードバンクと開花個体を対象にマイクロサテライトマーカー 10 座の遺伝子型を決定し、個体間距離に応じた遺伝子頻度の相関の強さの指数として Moran's  $I$  を算出した。

表層 0-1cm から採集した土壌シードバンク (SSB) と開花個体との間の空間的遺伝構造は、近傍の個体間で正の相関が見られたのに対し、深層 1-5cm から採集した土壌シードバンク (DSB) と開花個体との間には、明瞭な空間的遺伝構造は見られなかった。このことから SSB は前年の散布種子が多くを占める一時的シードバンクとしての性格が強く、DSB は複数世代の散布種子を蓄積した永続的要素を反映するものであることが示唆された。

出現実生は開花個体の近傍 20 cm に集中分布しており、生残の過程で出現時よりも集中度が増す傾向が認められた。これは、定着セーフサイトの空間的不均一性に起因するものであり、実生の生存率は降雨時に水が溜まる窪地で有意に低かった。空間的遺伝構造の形成には、地上個体群の種子散布とセーフサイトへの集中をもたらす実生の定着の過程が寄与していると考えられた。

## 7. 本研究の意義

本研究は、土壌シードバンクの時空間的動態を、経験的データによって予測に十分な精度で把握した初めての研究である。これまで植物の個体群動態における土壌シードバンクの生態学的および進化学的な役割の重要性は認識されていたが、その実態は必ずしも十分に把握されていなかった。本研究の成果を活用することで、地上および地下個体群を統合した個体群動態モデルの構築が可能となる。それは、今後の高山環境変化の監視と影響予測という実践的課題に大きく貢献するだけでなく、植物の生活史の進化を研究するための手段としても有用であると考えられる。