

食と農の総合研究所研究プロジェクト 研究成果報告書

研究課題	天然記念物「荒川のカンヒザクラ」の増殖と自生植物の遺伝的多様性保全への応用
研究種別	<input checked="" type="checkbox"/> 共同 <input type="checkbox"/> 個人
研究組織	神戸 敏成（農学部・教授）研究代表者 三浦 励一（農学部・准教授） 渡邊 幹男（愛知教育大学・教授） 大原 隆明（公益財団法人花と緑の銀行・企画情報課長補佐）
研究期間	<input type="checkbox"/> 1年研究 <input checked="" type="checkbox"/> 2年研究
キーワード	(1) 天然記念物 (2) サクラ (3) 多様性保全 (4) 増殖 (5) 植物資源

1. 研究計画(簡潔にまとめて記入してください。)

①遺伝的多様性の解明のための形態的調査および遺伝子解析

これまでの研究により「荒川のカンヒザクラ自生地」のカンヒザクラは台湾に自生するカンヒザクラとは異なる日本固有の新種である可能性が示唆されている。本研究では花および葉の形態的調査とアロザイム解析等を行うことにより「荒川のカンヒザクラ自生地」に自生する個体の遺伝的多様性を明らかにする。

②現存する個体の系統保存のためのクローン増殖方法の確立

カンヒザクラの唯一の自生地は天然記念物にも指定され、さらに国立公園内でもあることから、材料を豊富に得ることは不可能である。そのため、実験に必要な数を採取することが可能な沖縄本島に植栽されているカンヒザクラを用いて、茎頂からの増殖方法を確立する。その方法を用いて、天然記念物「荒川のカンヒザクラ自生地」に現存する各個体についてクローン増殖を図り、試験管内での系統保存を試みる。

③保全方法を構築するための生活史の解明

開花期における開花状況の調査および結実期における結実状況の調査を行なうことにより自然結実の実態を明らかにする。保全方法の確立に必要でありながら、これまで十分に解明されてこなかったカンヒザクラの結実特性や発芽特性等の生活史を明らかにする。近年の「荒川のカンヒザクラ自生地」の開花状況から考えると発芽試験に供試するに十分な種子が得られるとは考えにくいいため、沖縄本島に植栽されている株からも種子を採種し、発芽試験および種子の保存試験には主にこれらの種子を用いる。

④カンヒザクラの保全のためのネットワークの構築

本研究で保全を実施するカンヒザクラは耐寒性が低いことが知られ、本州の露地栽培での保全は難しいと考えられる。「荒川のカンヒザクラ自生地」の保全に取り組む仕組みや生息域外保全の実施などを検討することができるネットワークを構築する。

2. 研究成果の概要(4 ページ程度)

① 遺伝的多様性の解明のための形態的調査および遺伝子解析

天然記念物「荒川のカンヒザクラの自生地」の調査において開花が確認できた 10 個体を材料とし、沖縄本島本部町八重岳桜の森公園に植栽されている 20 個体との比較を行った。花の形態は 70%エタノールの液浸標本を作成し、葉の形態はさく葉標本を作成して、それぞれ 18 および 6 形質（第 1 表）について調査を行った。

第 1 表 観察を行った花部および葉部

花部		葉部
・花序の形状	・萼片の形	・葉柄の毛の密度
・花序当りの花数	・萼片先端の状態	・葉柄の毛の質
・花の開き方	・萼片の毛密度	・葉身の形
・花柄の毛密度	・萼片の毛の質	・葉身先端の形状
・花柄の毛の状態	・萼片縁の毛の数	・葉身表面の毛密度
・小花柄の毛密度	・萼片縁の鋸歯の数	・葉身裏面の毛密度
・小花柄の毛の質	・花弁の形	・葉身の毛の質
・最下苞の形	・雄蕊の数	・葉縁の大鋸歯の数
・最下苞の毛密度	・雄蕊先端の位置	・葉縁の重鋸歯の数
・最下苞の毛の質	・雌蕊の毛の数	・葉縁の大鋸歯先端の形状
・萼筒の毛密度		・葉縁の大鋸歯縁毛の密度
・萼筒の毛の質		・葉縁の大鋸歯縁毛の質
		・葉縁の細鋸歯の数
		・葉縁の細鋸歯先端の形状

その結果、自生地株は花がほぼ平開する、花は直径 25 mm 以上と大型、萼筒が広い釣鐘状筒型であることなど琉球地域のカンヒザクラに見られる特徴がみられ（第 1 図）、これまでに調査を行ってきた台湾の自生株や台湾・日本の本州で栽培されているカンヒザクラとは明らかに異なっていた。これまでの調査から沖縄県本部町八重岳に植栽されている集団は石垣島に自生する集団と比較すると変異の幅が大きい形質があり、石垣島に自生するカンヒザクラの形態的な多様性は低いと考えられる。花色が豊富な八重岳の植栽株と比較すると石垣島の自生株の花色には当初変異が見られないと考えていたが、2023 年の調査で、これまで十分な調査が行えていなかった個体に花色が薄い個体があることが明らかになった。



第 1 図 石垣島に自生するカンヒザクラ

カンヒザクラの石垣島の自生株および八重岳桜の森公園の植栽株について、13 酵素種（GOT, PGI, PGM, SKD, LAP, DIA, 6PG, TPI, ACP, IDH, MDH, G6PD, ADH）を用いてアロザ

イム酵素多型解析を行った結果、13 酵素種 21 遺伝子座中 8 遺伝子座で多型がみられた。2つの遺伝子において石垣島の自生株および沖縄本島の植栽株に固有と考えられる対立遺伝子マーカーがあると判断された。さらに、日本産の他のサクラとの交雑がない

かを検討した結果、石垣島の自生株および八重岳の植栽株の集団において日本産のサクラの対立遺伝子と共通のマーカ遺伝子は検出されなかった。

これまで、石垣島に自生するカンヒザクラや琉球列島に植栽されているカンヒザクラは、台湾に自生するカンヒザクラや台湾や日本の本州に植栽されているカンヒザクラと同一種として扱われてきた。しかし、我々はこれまでの調査から、琉球列島のカンヒザクラは台湾のカンヒザクラとは異なる分類群であると考えてきたが、今回の研究結果も、これらは異なる分類群であり石垣島のカンヒザクラは新種であると考えることが妥当であるという結論に至った。

② 現存する個体の系統保存のためのクローン増殖方法の確立

天然記念物「荒川のカンヒザクラ自生地」に現存する個体から増殖方法を確立するための実験に供試するために十分な材料を新たに得ることが困難であることから、試験管内で維持している自生地由来の長浜系統および栽培株である‘花織’、‘八重アカネ’を用いて実験を実施した。

これまでの研究により、カンヒザクラは他のサクラ属植物と比較して試験管内での発根が難しいことが知られているが、発根培地の基本培地を NDM 培地から 1/2MS 培地に変更することで頻度は低いものの発根することが明らかになり、培地中の窒素源の濃度が発根に影響することが示唆されていた。

はじめに、窒素源の種類および濃度が異なる 4 種類の MS 培地 (MS, MS3A, MS4, MS5) を用いて発根試験を行ったところ、窒素源である硝酸窒素および硝酸アンモニウムの濃度を 1/2 にした MS3A 培地および硝酸アンモニウムを除いた MS4 培地において、頻度は低いが発根が観察された。続いて、MS 培地および無機塩濃度 1/2, 1/4 に改変した MS 培地を用いたところ、長浜系統では、通常濃度の MS 培地では発根が見られなかったが、無機塩濃度を 1/2 または 1/4 にすることにより、約 30% の発根率が得られた。一方、植栽株由来系統では、‘花織’ではいずれの条件においても発根は見られなかったが、‘八重アカネ’では通常濃度および 1/4 濃度の MS 培地で 23-25% の発根率であったが、1/2 濃度の MS において約 57% の高い発根率が得られた。これらの結果から、MS 培地の無機塩濃度を 1/2 にすることがカンヒザクラの発根に効果的であることとともに、品種間差が存在することも明らかになった。

また、植物の組織培養においては炭素源として一般的にスクロースが用いられているが、マルトースがカンヒザクラの組織培養による増殖に有効的であるという新たな知見が得られている。

本研究で確立した培養系を利用して天然記念物「荒川のカンヒザクラ自生地」に自生する個体の系統保存を行うことが目的の一つであったが、2021, 2022 年はコロナ感染の拡大により茎



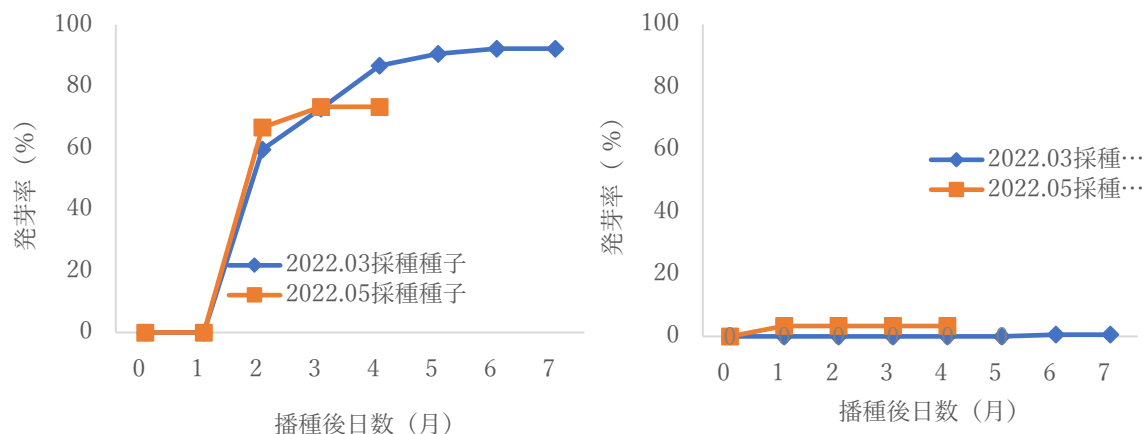
第 2 図 石垣島の自生株由来植物

頂培養の適期である 2 月のサンプリングを実施することができなかった。2023 年 2 月に自生地からサンプリングを行うことができたことから、茎頂培養を行い自生株由来の 7 系統を試験管内に導入することができた（第 2 図）。

③ 保全方法を構築するための生活史の解明

自生地である天然記念物「荒川のカンヒザクラ自生地」一帯では、種子による更新が全く観察できないことから、このサクラを保全するためには種子の発芽特性を明らかにすることが重要であると考えている。しかし、自生地のカンヒザクラは天然記念物「荒川のカンヒザクラ自生地」として保護されている上に、個体数が少なく発芽試験に供するに十分な種子を確保することが困難である。そこで、沖縄県本部町の八重岳桜の森公園に植栽されているカンヒザクラの果実を 3 月下旬の結実期および 2 ヶ月後の 5 月下旬の 2 回に分けて採集し、発芽試験を行った。

新鮮な果実の内果皮を除去して、種子を 70%エタノールで 30 秒間殺菌し、ユニパック F-8 に 2022 年 3 月に採取した種子は 60 粒、2022 年 5 月に採取した種子は 20 粒を入れて、パーミキュライト 400 ml および水 150 ml を加えた。25℃、20℃、15℃、10℃、7℃、5℃の暗黒条件下に置き、1 ヶ月ごとに発芽数を計測した。



第 3 図 温度条件がカンヒザクラの種子発芽に及ぼす影響
左：5℃，右：25℃.

播種 1 ヶ月後に確認できた発芽種子はわずかであったが、2 ヶ月後には多くの試験区において発芽が観察された。3 月および 5 月採取の種子は、いずれも 5-10℃の低温において高い発芽率が得られた(第 3 図)。3 月採取の種子において最も高い発芽率となったのは、7℃の 88.9%、次いで 10℃の 87.2%であった。5 月採取の種子の発芽率は、5℃が最も高く 73.3%となり、次いで 7℃で 70.0%という結果であった。一方、20-25℃の条件では発芽率が非常に低く、3 月採取の種子は 20℃、25℃共に 0%であった(第 3 図)。5 月採取の種子において最も低い発芽率となったのは 25℃の 3.3%で(第 3 図)、次いで 20℃の 13.3%であった。多くの種子は、播種後、1-3 ヶ月にかけて発芽し、4 ヶ月目には発芽率は最大値に近づく傾向が見られた。

一方、自生地由来種子は既に述べたように実験に供試できるだけの量を確保することができなかったことから、採集できた種子を用いて予備試験を行なった。20℃において、No. 122 系統由来の種子では 5%が発芽し、15℃においては No. 122 系統で 10%、No. 125 系統で 20%の種子が発芽した。10℃の条件下においては、4 ヶ月後に、No. 122 系統は 30.2%、

No. 125 系統は 27.8%となり、長浜系統は 2 ヶ月後に 5%、4 ヶ月後に 50%、5 ヶ月後に 60%、6 ヶ月後に 75%となった。5°Cの条件下においては、4 ヶ月後に No. 122 系統は 15.5%、No. 125 系統は 2%となった。自生地由来種子においても、発芽のための適温は植栽株由来種子同様 10°C近辺にあると推測された。

これらの結果から、亜熱帯に自生するカンヒザクラにおいても種子の発芽には温帯性のサクラと同様に低温が必要であることが明らかになった。また、植栽株由来種子は 15°C以上の温度下ではほとんど発芽が見られなかったが、自生株由来種子では、ある程度の発芽が認められた。サンプル数が少ない問題はあるが、自生株由来種子の発芽可能温度が植栽株よりも幅広いことが示唆された。過去 10 年間で、沖縄県石垣島の最低気温が 15°C以下になったことはなく、自生地で個体数が減少している要因の一つに最低気温の上昇により、実生苗による更新が行われなくなっていることが考えられる。

植物の保全を実施するためには、その植物の生活史を明らかにすることが重要であり、本研究では開花・結実・発芽に関する調査をおこなうことで天然記念物「荒川のカンヒザクラ自生地」に自生するカンヒザクラの保全の方策を見出すことを目的の一つにしていたが、残念ながら、本研究期間中はコロナ感染拡大の影響を大きく受け、自生地での調査を計画通り実施することができなかった。特に同一シーズンで開花期と結実期の両調査を実施できたシーズンは一度もなかったため、残念ではあるが開花状況と結実状況を関連づけて生活史に関する考察をするに至らなかった。

④ カンヒザクラの保全のためのネットワークの構築

野生植物の保全では第一に自生地での保全（生息域内保全）が重要であると考えられるが、自生地の環境変化など様々な要因により生息域内保全が困難な場合もある。そのような場合には、自生地以外の場所で保全する生息域外保全が行われている。天然記念物「荒川のカンヒザクラ自生地」のカンヒザクラでは、他の植物の成長とともに自生地環境が変化し、必ずしもカンヒザクラの生育に的地的しているとは考えられない。しかしながら、自生地は天然記念物かつ国立公園として指定されており、カンヒザクラのための環境改善は容易ではない。そこで、現時点では生息域外保全についての検討を行なっているが、このような植物の保全には地元の協力が不可欠である。幸い、石垣市教育委員会文化財課とは、これまでの調査を通じて協力関係を築いている。本研究で調査対象としたカンヒザクラは耐寒性が低く本州での生息域外保全は難しいことから、地元の小中学校などの協力が不可欠である。残念ながら、本研究期間中はコロナの感染拡大の影響があり、石垣市の教育機関との関係構築をするに至らなかった。今後は、教育委員会とも連携しながら小中学校などの教育機関と本研究により増殖させた自生地由来のクローン個体や実生苗を用いたカンヒザクラの保全に関する連携を模索する予定である。

3. 研究成果の社会的還元について

本研究プロジェクトの研究成果について（１）社会的な意義や影響（２）社会にどのように発信したのか、を平易にご説明ください。

（１）社会的な意義や影響

国の天然記念物に指定されている「荒川のカンヒザクラ自生地」のカンヒザクラは環境の変化などにより生育状況が悪化し、危機的な状況にある。このカンヒザクラは、台湾に自生しているサクラと長年同種として扱われてきたが、我々のこれまでの研究では、台湾の種とは異なる新種であることが示唆されていたが、本研究プロジェクトの結果も石垣島の「荒川のカンヒザクラ自生地」のサクラは新種であることを支持していた。近年発見されたクマノザクラの例を見ても明らかかなように、日本産のサクラの新種は大きな反響を与えている。組織培養技術を用いて天然記念物に指定されている個体の増殖・保存が可能になり、植物資源として持続的に利用することが可能となった。さらに、本研究で明らかにしてきたカンヒザクラ種子の発芽特性から考えると、現在の自生地での実生による更新は貴重な植物資源であるカンヒザクラの多様性を維持しながらの保全と持続的な利用を目指しており、研究成果は文化財保護や生物多様性の保全につながって行くことが期待される。

（２）社会への発信

コロナの感染拡大により、発表を予定していた学会が中止になるなど、成果の発表を思うように行うことができなかった。2023年3月に開催された園芸学会令和5年春季大会において、成果の一部である琉球列島のカンヒザクラの種子の発芽条件に関して発信した。

4. 収支報告

(非公開)

5. 研究発表等(研究代表者及び研究分担者)

学会発表・発表論文・著書・学外資金獲得状況 等

<学会発表>

田中里奈・大原隆明・渡邊幹男・三浦励一・佐藤裕之・神戸敏成, リュウキュウカンヒザクラの種子発芽に対する温度条件の影響, 園芸学会令和5年度春季大会, 2023