

(花粉学実験講座)

## 4 花粉分析法

### はじめに

19世紀後半から20世紀初頭のスカンジナビアでは、後期第四紀の気候変動によって引き起こされた植生史の問題が盛んに論じられ、その主役となっていたのは、スウェーデン人のレナート・フォン・ポストであった。彼は、今日の花粉分析法の基礎を示した創立者とされている。この時以来、花粉分析は後期第四紀の植生研究の同義語となっている。<sup>(1)</sup>

この花粉分析については、1967年に発行された「花粉分析」<sup>(2)</sup>を初めとして、1974年発行の「古生態学Ⅰ<sup>(3)</sup>、Ⅱ<sup>(4)</sup>」において、詳しく論じられている。また、最近では1985年に、雑誌「遺伝」<sup>(5)</sup>において、12回にわたって論じられ、その全般的な説明がなされている。

したがって、ここでは、上記刊行物および外国の刊行物<sup>(6,7)</sup>を参考にして、花粉分析の研究方法の実際について、図1で示した順に従って、概説することにする。

#### (a) 植物群落から堆積物へ

植物群落が生産した花粉は、その多くが風や水を媒介にして、様々な範囲に散布される。特に、風媒性の樹木花粉は広い範囲におよび、堆積の場に運ばれたものは、その外膜の強靱さのために、長く堆積物中に保存されることになる。花粉分析の分野では、このような花粉を、植物遺体の一部ではあっても、化石花粉 (fossil pollen) と呼んでいる。

森林群落の変遷を対象とする花粉分析の研究の多くは、樹木花粉を中心になされ、その散布源は広域的な植物群落にあると仮定されている。この仮定に対して、現存する植生と、その影響の強い堆積物表層に含まれる花粉群との比較による多くの検討がなされてきた。

デービスのR値<sup>(7-①)</sup>は、その代表的なものであり、森林群落の規模と、花粉の出現率との間に、一定の係数を導くもので、この係数を過去の花粉出現率に応用し、過去の森林規模を推定するものである。

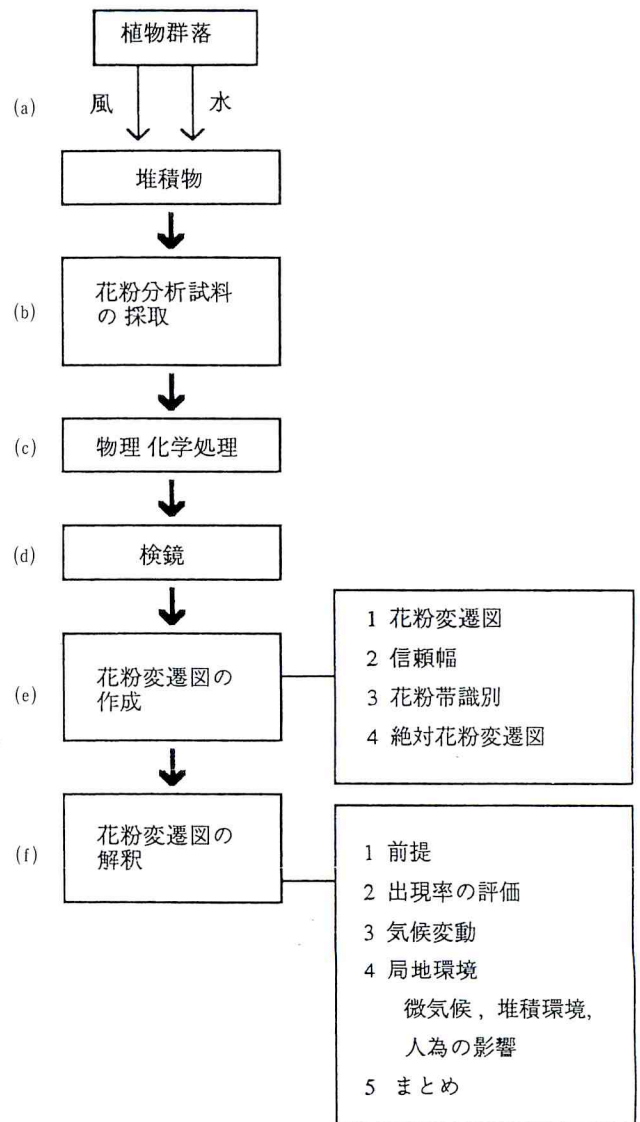


図1 花粉分析の過程

$$R_a = \frac{\text{種 a の花粉出現率}}{\text{植生内における種 a の出現率}} = \frac{P_a}{V_a}$$

$$\hat{V}_f = \frac{P_f}{R_m} \quad R_a : \text{種 a の係数}$$

$$\hat{V}_f : \text{化石から推定される植生}$$

$$P_f : \text{化石花粉の出現率}$$

$$R_m : \text{各現世種の係数}$$

ただし、このような係数は、多様な植生や地域間での一般化は困難であり、また、現在とは異なる過去の植生に用いる場合にも、困難な点が多い。

これに対して、現存植生の群落単位の分布域との比較から、花粉の出現率に、具体的な基準を示した守田<sup>(8)</sup>の方法は、実地的である。一方、YONEBAYASHI<sup>(9)</sup>は、一定地域内で、同一時代と識別される花粉帯を対象として、複数の地点間で比較するために各花粉の変動係数と平均出現率の関係を整理した。この方法によりそれぞれの散布源を、広域的大集団、広域的小集団、局地的大集団、局地的小集団の4つに分類している。YONEBAYASHIの方法は、各花粉消長図 (pollen profile) の内容を基準化したものであり、いずれの地域の花粉帯も検討できる点において重要である。従来、花粉帯内で、激しい消長を示す傾向の強い *Alnus* などは、局地的な要素として、理解されてきたが、これに客観的な基準を与えたことになる。また、海底や湖底のように、散布源から遠く離れた場合、浮遊力や花粉生産力の小さい局地的要素は反映されにくくなる。

このように、様々な散布源を持つ化石花粉群は、さらに堆積の場の影響を受けるために、その内容は複雑なものとなる。しかし、数千年を単位とするような植生変遷に関しては、海底堆積物にも、陸上での植生の変化が記録され、その堆積物は、花粉分析の対象となっている。また、第四紀は、第三紀以前と比べて絶滅種が少ないので、再構成される過去の植生の印象は、現存する植生に求められることが多い。その意味で、第四紀、特に後氷期は過去を解く鍵が現存する時代である。

### (b) 花粉分析試料の採取

柱状に連続した堆積物試料を得るためには、堆積物の上下の関係を乱すことのないように注意する。このために、ヒラー型のハンドボーラーが一般に良く使われている。ハンドボーラーでは、砂や礫を含む層を貫通することが困難であるが、花粉の堆積の場としては、流水の影響の少ない場が望ましく、ハンドボーラーにより採取された試料は、堆積環境として、選択されたものとなる。ただし、ハンドボーラーでは、深さ 10 m 程度が限度であり、これ以上の堆積物は動力掘削による採取となる。

試料は、通常、新聞紙で包み風乾状態に置けば、長期間保存される。ただし、絶対量を測定するためには、容積の計算が必要となるので、4℃で保管することが必要である。

### (c) 物理化学処理

土壌には、花粉・胞子の他に、腐植質などの有機物が鉍物質に混入している。この土壌中から、花粉・胞子のみを効率良く濃縮するために、KOH法による各構成物質の遊離と、鉍物質からの分離のために、 $ZnCl_2$ 水溶液による比重分離、そして、セルロースを除去するための醋化 (アセトリシス) 処理が行われる。

柱状試料は、5 cm ないし 10 cm 間隔で切断し、分析用の試料とする。泥炭や有機質に富む沈泥 (Silt) や粘土 (clay) の場合には、多量の花粉が含まれているので 1 g (あるいは 1 ml) 程度で十分であるが、砂質のものでは 10 g 程度使用することもある。

遠心分離機のホールダー数に合わせて、試料数を決めるが、通常、8 試料程度を一度に処理することが多い。

#### <KOH 処理>

①試料をガラス遠沈管 (15 ml) に入れ、3 ml の 10% KOH を加え攪拌する。

②湯煎 (5 分)

③蒸留水を加え攪拌し、遠心分離 (3000 回転/分)

(5 分)。この水洗は、上澄みが透明になるまで、数

回、繰り返す。

④沈殿物を 1.0 mm 程度の真鍮網で濾過し、別の遠沈管に移す。

⑤濾過したものに蒸留水を加え、遠心分離（5分）  
〈比重選別処理〉

⑥ 70% の  $ZnCl_2$  水溶液（500 ml 中に 5 ml の HCl を含み、比重が 1.6-1.8 に調整されたもの）を 10 ml 加え攪拌（超音波洗浄器を用いる場合は 40 KHz で 5 分）。

⑦攪拌したものを遠心分離（10分）し、花粉・胞子を重液の上層部に分離させる。

⑧上層部分をピペットで別の遠沈管に移し、蒸留水を加えて遠心分離（5分）、遠沈管の底に集める。上澄み部分は遠沈管を素早く倒立させて棄てる。

〈醋化（アセトリシス）処理〉

⑨氷酢酸（5 ml）を加え脱水、遠心分離（5分）、上澄みを棄てる。

⑩混酸（無水酢酸：濃硫酸，9：1）を 2 ml 加え、湯煎（5分）

⑪氷酢酸（5 ml）を加え遠心分離（5分）、上澄みを棄てる。

⑫蒸留水（10 ml）を加え遠心分離（5分）、上澄みを棄てる。

⑬ 10% KOH（2 ml）を加え湯煎、蒸留水（10 ml）を加え遠心分離（5分）、上澄みを棄てる（⑬の処理は花粉を濃褐色から黄色にする）

〈封入〉

⑭グリセリン（数滴）を加え、ピペットから息を吹き込み攪拌

⑮スライドグラス上にグリセリンジェリーを 1-2 滴落とした部分に⑭からピペットにより 1-2 滴とり、ガラス棒により、カバーグラスの大きさの範囲で均一に混ぜてから、封入。

この過程で注意する点は、⑤の水洗が不十分であると KOH と  $ZnCl_2$  が反応して、コロイド状の水酸化物の沈殿が生じ、その後の処理を防げるので、この沈殿が生じた場合には、10% HCl（5 ml）を加え除去しておく。また、⑨では、遠沈管内部に水滴が残らない

ように、氷酢酸を注ぐようにすることである。

堆積物に含まれる花粉濃縮量（Pollen concentration）は、絶対花粉量（Absolute pollen influx）を導き出すために必要であり、その方法としては、重量法、容積法、外来標識花粉法があるが、容積を正確に測定することや、標識となる花粉を得ることは、やや困難なので、ここでは、重量法にふれることにする。

花粉濃縮の過程を通して、使用される遠沈管などの各重量を測定しておき、最終的に、作製されたプレパラート中に含まれる全花粉、胞子数から、試料 g あたりの数を逆算するものである。この際、2 枚のプレパラートを作成しておく、平均値により、さらに正確な値を得ることができる。また、この 2 枚のプレパラートの花粉粒数の差を少なくするには、⑭で、グリセリンではなく、グリセリンジェリーを加えるので、湯煎により遠沈管を温めることと、ピペットにより息を吹き込み、十分攪拌しておくことである。

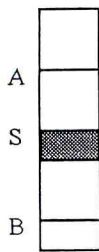
このようにして得た花粉濃縮量に、堆積速度を組み入れて、花粉量/面積/年に直したものが絶対花粉量である。（図 2）堆積速度の決定には、放射性炭素による年代測定値が、連続的に得られることが必要となる。

#### (d) 検鏡法

400 倍の視野の中に、接眼マイクロメーター（100 目盛）の 20-80 目盛の幅を設定し、上下（あるいは左右）にメカニカルステージを移動させながら、個々の花粉を同定してゆく。この際、数取り器（20 個程度）を利用する。また、不明花粉や特殊な花粉は、ステージの座標により、位置を記録しておく。

同定する花粉の基本数の求め方は、広域的に森林を構成する樹木花粉を中心にして、200 個以上同定されることが多いが、500 個を基本数とする場合もある。花粉の同定には、島倉<sup>(10)</sup>や中村<sup>(11)</sup>の写真集が便利であるが、今後、走査型電顕による同定が可能になるかも知れない。





$$\frac{\text{A - B 間の長さ}}{\text{A - B 間の年数 (}^{14}\text{C 年代測定値)}} : \text{堆積速度} \quad (\text{mm / year})$$

$$\frac{\text{S (試料) の厚さ}}{\text{堆積速度}} : \text{堆積年}$$

$$\frac{\text{花粉量}}{\text{断面積}} : \text{絶対花粉量}$$

$$\frac{\text{堆積年}}{\text{断面積}} : \text{絶対花粉量}$$

図2 絶対花粉量の求め方

## (e) 花粉変遷図の作成

## (i) 花粉変遷図 (図3)

基本数に対する各花粉種の出現率を、百分率で示す様式は、フォン・ポスト以来、変わっていない。花粉変遷図は、分析結果を総合的に図示するものであり、堆積物の深さ、 $^{14}\text{C}$ 年代測定値、土壤断面図が付けられる。

1 試料に含まれる化石花粉の内容を種類別に百分率で示したものを花粉スペクトル (pollen spectrum) といい、左端から、針葉樹、広葉樹、草本、シダの順に配列されることが多い。これに対して、各花粉種の出現率を、堆積の順に図示したものを、花粉消長図 (pollen profile) と言う。

花粉変遷図は、横方向の花粉スペクトルの出現率を、縦の花粉消長図として、まとめたものなので、試料間の出現率は不明であり、上下の出現率を線で結ばずに、各試料毎に、棒のヒストグラムで示すことになる。

## (ii) 信頼幅

各花粉出現率に対して、それぞれの信頼幅を示す方法もあるが、花粉変遷図に用いられることは少ないようである。ただし、相対値による増減の判断には、この信頼幅を考慮する必要があるので、モシマン<sup>(6-①)</sup>の式を以下に示しておく。

95% の信頼幅

$$\hat{p} + \left[ \frac{(1.96)^2}{(2n)} \right] \pm (1.96) \sqrt{\frac{[\hat{p}(1-\hat{p})/n] + [(1.96)^2 / (4n^2)]}{1 + [(1.96)^2/n]}}$$

n は基本数、 $\hat{p}$  は各花粉種の出現率

## (iii) 花粉帯識別

花粉変遷図の理解を助けるために、一様な花粉の集合状態を示す部分に、境界線を加えて花粉帯 (pollen zone) を示すことが多い。花粉帯は、初め、ゴドウィン<sup>(16-②)</sup>により、広範な地域に起きた気候変動にもとづいて生じた植生変遷の時間的基準として定義されたが、その後、同一時期に多様な植生の存在が、花粉帯として示されるようになった。そのために、一般化された花粉帯とは、独立に、地点毎の花粉帯が識別されるようになり、局地花粉帯 (local pollen zone) として、花粉変遷図の右端に示されている。

日本でも、中村<sup>(2)</sup>・塚田<sup>(12,13)</sup>が一般化した後氷期の花粉帯区分 (R I, R II, R III<sub>a</sub>, R III<sub>b</sub>) を各花粉変遷図に設定し、ヨーロッパの花粉帯との対比や考察が重要視されるようになってきた。また、局地花粉帯を示すことにより、さらに、地点間の植生変遷の比較が容易になると思われる。

## (iv) 絶対花粉変遷図

c) の処理法で示したように、絶対量の算出には、多くの $^{14}\text{C}$ 年代測定値が必要となる。そのために、絶対花粉変遷図を示した研究例は、未だ少ないのが現状である (図3)。

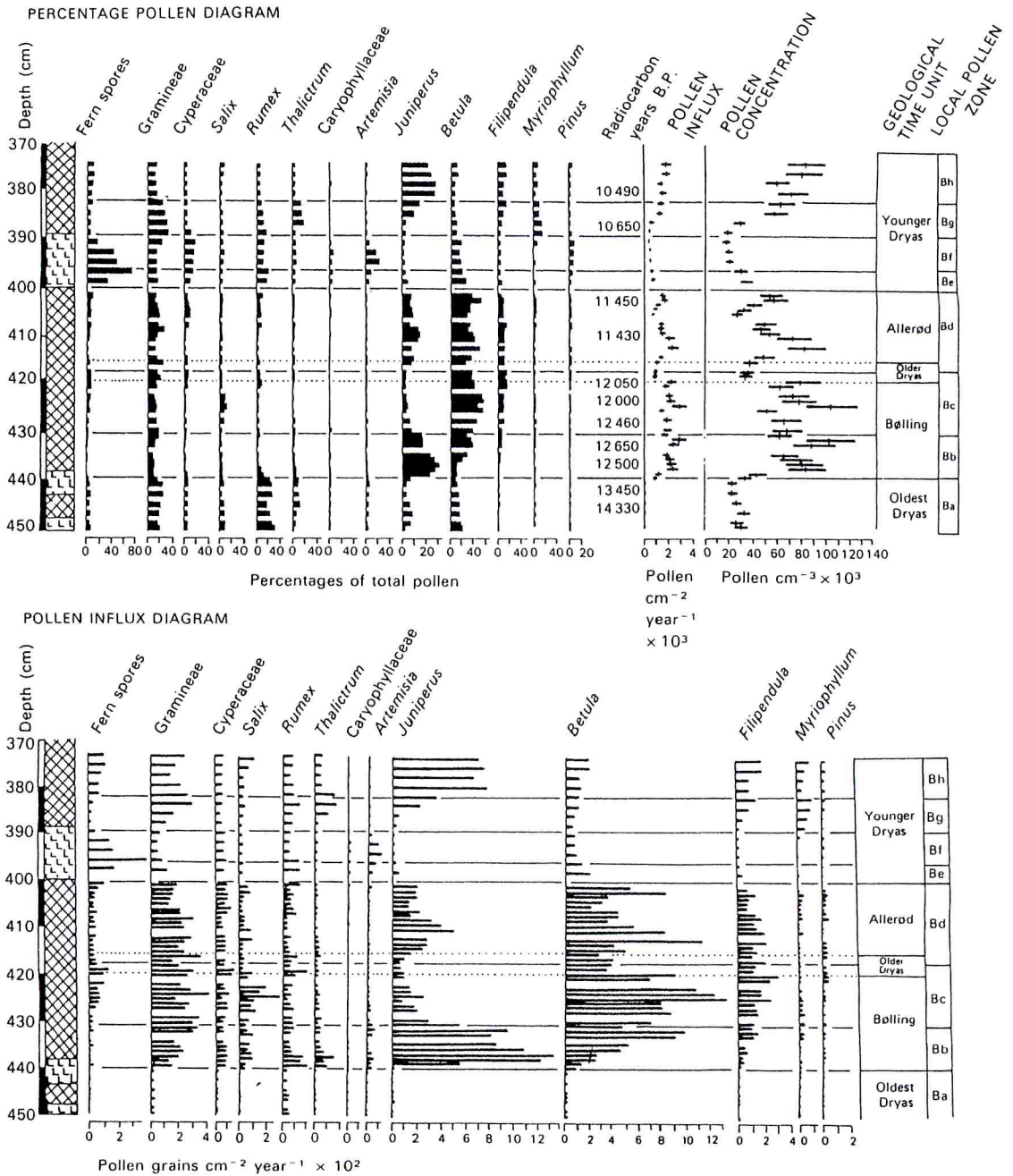


図3 花粉変遷図(上)と絶対花粉変遷図(下) (Penington and Bonny, 1970<sup>(19)</sup>より引用)

これに対して、花粉濃縮量の変遷は、時間的尺度が欠けているが、花粉変遷図の実質的内容を示すことができるので、相対値での増減に対して、考察を加えることができる。

#### (v) まとめ

花粉変遷図は、地点間や研究者間での比較を容易にするために、統一された形式が望ましい。

#### (f) 花粉変遷図の解釈

(i) 花粉の散布源となる母樹が存在していても、クスノキ科の花粉のように、その外膜が弱く分解しやすいものは、化石花粉として扱うことができない。また、カラマツやヒノキ科のように、花粉の識別が困難な場合にも、花粉分析結果に、それぞれの存在が、欠落することになる。したがって、花粉分析の結果は、散布源となる地域の植生を全て反映したものではないことを前提としなければならない。また、花粉の同定は、基本的には属科単位であるので、類推された種の複合が、解釈の基礎となっている。

#### (ii) 出現率の評価

各花粉帯で類推された種の複合が、現在の気候的極盛相林を構成するものであれば、散布源となった植物群落の大まかな存在を特定できることになる。

そこで、各花粉種の相対的な存在量を推定するために、出現率に対する評価が必要となるが、一般に、過大に表現されるものとして、*Pinus*, *Alnus*, *Betula*, *Corylus* が挙げられ、過小に表現されるものとしては、*Tilia*, *Salix*, *Acer* などであり、*Fagus*, *Abies*, *Picea*, *Taiga* などは、植生規模に同等な出現率を示すものとされている。<sup>(2,3,5,8)</sup>

#### (iii) 気候変動

##### 後氷期の気候変動

数千年を単位とする、後氷期における森林樹木の変遷とそれに基づく気候変化は、現在の亜高山地域の分析結果から、I). 寒冷期（亜高山性針葉樹時代：R I 帯 10,000—9,000 年前）、II). 温暖期（落葉広葉樹時代：R II 帯 9,000—4,000 年前）、III). 冷温期（針

広混交時代：R III 帯 4,000—現在）の3つの時期のあったことが明らかにされ、<sup>(13,14)</sup> さらに、細分化する試み<sup>(13,15)</sup>が為されている。

#### (iv) 局地環境

広域的な気候変動に対して、微気候の状態を、局地的に考察するためには、花粉変遷図を再構成する方法が取られている。

たとえば、亜高山性の針葉樹と山地性の広葉樹の比の変化から、それぞれの分布域の変動の開始期を推定したり、出現する花粉種を生態的にグループ化することにより、<sup>(7-9)</sup> 遷移を跡づけたりする。また、出現率は低くても、温度環境の示標として有効なものとして、中村<sup>(2)</sup>は、コケスギラン（分布域が高山帯に限られている）、ヤドリギ（マツ、モミ、落葉樹に寄生する三種がある）、ツルシキミ（モミーツガ林からブナ林下部までの林床に生育する）を示している。いずれも形態的特徴が明らかであり、散布域も限られるものと考えられ、それぞれの生育地に結びつきの強いものである。この他に、暖温帯に分布するイノモトソウ属は、冷温帯への移行地域では、わずかな気候変化がその分布域に影響を示すものと考えられる。

一方、各種水生植物の花粉の消長は、堆積環境の変化と結びつきやすく、注目される。<sup>(16)</sup> シダ胞子は、花粉とは異なり、散布された地域で発芽が可能であれば、定着し、分布を拡大できる。しかも、胞子の生産量が多いことから、局地的な環境の様々な変動と結びつきやすいものと考えられる。

検出された花粉・胞子を、樹木花粉、草本花粉、シダ胞子の3成分に分けて、それぞれの消長を示すことは、花粉分析の実質的な内容を示すとともに、局地的な環境の変動を示す示標として考察されるかも知れない。

人為の影響に関しては、<sup>(4,5)</sup> 6つの条件が示されている。①樹木花粉の減少、②二次林花粉の増加、③草本花粉の増加、④雑草花粉の連続的出現、⑤栽培植物花粉の連続的出現、⑥①—⑤の状態が自然界での植物群落の遷移の時間の単位をこえて連続していること。



①, ②, ③の増減には絶対量による考察が必要となる。⑤の栽培植物は、外国から導入された帰化植物であるので、在来種との同定が容易な場合（ソバ、ゴマなど）が多いが、イネ科花粉は最も重要な栽培植物を含むにもかかわらず、栽培型花粉を同定することが困難であった。中村<sup>(17)</sup>は、その稲作の起源に関する研究の中で、位相差顕微鏡を用いた同定方法を確立し、全国的な規模でイネ栽培の開始時間を推定してきた。

#### (v) まとめ

イヴァーセン<sup>(6③)</sup>がヤドリギ、セイヨウキツタ、セイヨウヒイラギを、それぞれの霜感受性により、有効な気候の示標として用いたことは有名であるが、その後、トロエルースミス<sup>(6④)</sup>により、それらは先史文化の中で重要な飼料植物とみなされ、それらの減少は気候の悪化を必ずしも意味しないものとされた。このように、環境復元への考察には、多方面からの状況的証拠の一致することが必要であるが、事例研究を増やすことと同時に基礎的な研究、たとえば花粉の同定を種の段階に近づけることや、各花粉の散布源の推定をより確実なものにすることが期待される。

日本における花粉分析学的研究は、欧米に比べて<sup>14</sup>C年代測定値などが不足しており、相対値で示される花粉変遷図の解釈が十分に進まないことがあるが、日本列島は氷河の影響を直接受けていないために、土壌の攪乱の少ない数十万年に及ぶ堆積物の分析が期待されている<sup>(18)</sup>。この分析結果が示されれば、世界的にも後期第四紀を代表する植生史研究の資料となるであろう。また、後氷期堆積物の分析が各地域で進められることにより、原植生の復元や現植生の成立過程の理解に結びつくものと思われる。

### 参 考 文 献

- (1) Faegri, K. and J. Iversen: Textbook of Pollen Analysis. Munksgaard, Copenhagen (1964).
- (2) 中村 純: 花粉分析. 古今書院, 東京 (1967).
- (3) 塚田松雄: 古生態学 I—基礎論—共立出版, 東京 (1973).
- (4) 塚田松雄: 古生態学 II—応用論— 共立出版, 東京 (1974).
- (5) 三好教夫: 花粉分析(1)—(12). 遺伝 39, (1985).
- (6) Moore, P. D. and J. A. Webb: An Illustrated Guide to Pollen Analysis. Hodder & Stoughton, London (1978).
  - ① モシマン Mosimann, J. E. pp. 86-88.
  - ② ゴドウィン Godwin, H. pp. 3-5.
  - ③ イヴァーセン Iversen, J. p. 117.
  - ④ トロエルースミス Troels-Smith, J. p. 117.
- (7) Birks, H. J. B. and H. H. Birks: Quaternary Palaeoecology. Edward Arnold, London (1980).
  - ① デービス Davis, M. B. pp. 196-197.
  - ② ヤンセン Jannssen, C. R. p. 235.
- (8) 守田益宗: 八甲田山の表層花粉の分布パターンと植生の関係について 日生態会誌 31, 317-328, (1981).
- (9) Yonebayashi, C.: Studies on the local and regional pollen components in the Kakuda basin, Miyagi Prefecture, northeast Japan. *Ecol. Rev.* 21, 210-220 (1988).
- (10) 島倉巳三郎: 日本植物の花粉形態. 大阪自然科学博物館収蔵資料目録 第5集. (1973).
- (11) 中村 純: 日本産花粉の標徴 I, II. 大阪市自然史博物館収蔵資料目録第12, 第13号 (1980).
- (12) 塚田松雄: 過去一万二千年間・日本の植生変遷史 I. 植雑 80, 323-336 (1967).
- (13) 塚田松雄: 過去一万二千年間—日本の植生変遷史 II 日生態会誌 31, 201-215 (1981).
- (14) Nakamura, J.: A comparative study of Japanese pollen records. *Res. Rep. Kochi Univ.* 1, 1-20 (1952).
- (15) Yasuda, Y.: Prehistoric environment in Japan. Palynological approach. *Inst. geogr. Fac. Sci., Tohoku Univ.* 28, 117-281 (1978).

- 
- (16) 辻誠一郎：日本産タヌキモ属花粉化石の再検討  
第四紀研究 18, 39-42 (1979).
- (17) 中村 純：イネ科花粉について、とくに (*Oryza sativa*) を中心として 第四紀研究 13, 187-198 (1974).
- (18) 三好教夫：徳佐盆地（山口県）における後期更新世の花粉分析（予報） 第四紀研究 28, 41-48 (1989).
- (19) Penington, w. and A. P. Borney: Absolute pollen diagram from the British Late-glacial. *Nature* 226, 871-873 (1970).
- 著者紹介：内山 隆（うちやま たかし）  
〈生年月日〉1952（昭和27）年3月13日 東京生れ  
〈略歴〉1976年 高知大学文理学部生物学科卒，  
1982年 東北大学大学院理学研究科博士課程後期  
3年の課程修了，1984年 千葉経済高校教諭，  
1988年 千葉経済短期大学専任講師  
〈研究テーマ〉中間温帯林域における森林の成立過程  
について  
〈抱負〉現存植生の成立過程を花粉分析学的に明らかにすること  
〈趣味〉散歩
-