

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月17日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07477

研究課題名(和文)半寄生植物ツクバネの果実散布と寄主選好性

研究課題名(英文)Host preference and seed dispersal of hemiparasite Buckleya lanceolata

研究代表者

加藤 正吾 (Kato, Shogo)

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：20324288

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ツクバネの根系を掘り出し、ホスト候補木の樹種ごとの根の存在比と、ツクバネの樹種別の寄生箇所数を比較することで、ホスト選好性を定量的に評価した。細根の寄生箇所数は、ツクバネ3個体はヒノキに、1個体はツブラジイに有意に偏っていた。ヒノキ-ツブラジイ林において、ヒノキ細根へ弱いホスト選好性を示すことが明らかになった。ツクバネの果実散布を自然条件と実験条件下で調査を行ったところ、散布には強い風が必要であるが、重い果実をもつものの散布距離は短く、長期間生存しやすい果実は近距離に、短期間で寄生を行う必要のある果実は遠距離に散布される傾向があることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

根で寄生する半寄生植物であるツクバネは、他の樹木に比べて分布が限定的である。このような特殊な生態を持つ樹木の保全や利用を考えた場合に、寄生樹種の選好性を明らかにしたことは、ツクバネの生育地の保全や、その利用を検討するための基礎情報となる。

また、果実の散布距離が、一定の範囲に止まるものが多いことが明らかになったことから、ツクバネの生育地保全には狭い範囲の生育地保全を行った上で、他の場所に好適環境を作り出す必要があることがわかった。

研究成果の概要(英文)：We evaluated host preference in *Buckleya lanceolata* quantitatively while comparing the root abundance of host species to the number of parasite root (haustorium) in *Chamaecyparis obtusa* - *Castanopsis cuspidata* forest. We dug soil the around root of four *B. lanceolata* and got 798 parasite root. The host of parasite root were identified by DNA barcoding and extraction liquid of root grinded. Three individuals had much number of parasite root of fine root in *C. obtusa* and one individual had much in *C. cuspidata*. *B. lanceolata* often formed a small parasite root to fine root and was not almost observed the state that parasite root adhered to an extremely large host root. We conclude that *B. lanceolata* preferred slightly fine root of *C. obtusa*. Productivity of fine root in host trees is likely significant factor in selection by *B. lanceolata*.

研究分野：森林生態学

キーワード：半寄生植物 風散布 根 果実 寄生根 ホスト 分布

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物の中には、寄生生活をおこなう全寄生植物や半寄生植物が知られている。半寄生植物とは水や無機栄養分を宿主に頼る一方で、自ら光合成をおこない炭水化物を生産する植物である。寄生生活をおこなう植物と寄生相手との結びつきを宿主特異性といい、宿主特異性が強い場合、寄生生物の分布は宿主となる生物の分布に依存することがある。本研究の対象植物である他の根系に根により寄生するツクバネは、ホスト樹種を特定する調査の困難さから森林群集の主な解析対象とはされてこなかったが、DNA バーコーディングの手法を用いることで自然条件下でのホスト樹種や選好性を明確にすることが可能となった。この研究により、ヒノキ林などに多いという森林群集の単なる一要素として扱いにとどまることなく、森林における独特な生態的地位を明らかにし、森林群集での位置づけを議論することができる意義をもつと考えた。また、ツクバネ果実の風による果実の上昇に着目し、風が種子分散に果たす生態的重要性を理解することを試みることは、低木のみならず、高木での翼果の翼の機能が種子分散に果たす役割を見直す一つの重要な視点をもたらすと考えた。

2. 研究の目的

半寄生植物ツクバネの果実散布と寄主(ホスト樹種)を明らかにした上で、ツクバネの空間分布について考察する。ツクバネは他の樹木の根系に寄生するため、ホスト選好性やその分布を規定する要因について不明なことが多い。ツクバネは低木にもかかわらず重量がある風散布型の果実をもつ。その散布力は、分布が偏って観察されるツクバネの空間分布と関係があると考えられるが、散布力についての知見は不十分である。このようなツクバネの生態的特性を、果実散布とともにホスト樹種の選好性から議論する。

3. 研究の方法

(1) ツクバネの空間分布調査

ツブラジイ林(岐阜市金華山)に30m×30mの調査区を設けた。半寄生植物ツクバネと上木の毎木調査を行った。ツクバネは萌芽によって株立ちするため、地際から分かれているものを幹、幹同士が目視で連結しているとみなした複数の幹を個体とした。ツクバネは、樹幹長30cm以上または樹高10cm以上の幹について、根元直径、樹高、樹幹長、立木位置を測定した。また、開花幹については、雌雄の判別を行った。上木は樹幹長2m以上かつ胸高直径1cm以上の個体を対象として樹種を記録し、DBHを測定した。K関数による分布解析を行った。光環境については、2015年に散乱光を下層の相対光量子束密度を曇天時に地上高2m、調査区の2.5m間隔の格子169点で測定した。また直射光の推定には、2016年に全天写真撮影を行い、DSFとISFの推定を行った。最終的に空間分布の解析については、Zero-Inflated Poisson Regression Model(以下、ZIPモデル)を採用したZIPモデルによりツクバネの分布と光環境の回帰に用いるべきとされたメッシュのみを用いて回帰をおこない、ツクバネの分布に光環境が与える影響を解析した。

ツクバネのアレロパシー効果の有無について、レタス種子に対するサンドイッチ法により評価した。供試植物には対象植物のツクバネ、調査地に生育する植物としてヒノキ、タカノツメ、ポジティブコントロールとしてオニグルミの4種を用いた。供試植物によって実験に使用した器官が異なり、ツクバネは根・葉・果実・苞、ヒノキは根・葉、タカノツメは葉、オニグルミは根をそれぞれ実験に使用した。検定植物は25暗黒条件下において、60時間生育した。60時間経過した後、プレートの穴毎に、検定植物の発芽率(%)・幼根長(mm)・胚軸長(mm)を計測した。幼根長と胚軸長は0.01mm単位で計測した。なお、各供試植物区および対照区は一度の実験につき3回反復した。

(2) ツクバネのホスト選好性調査

ツクバネのホスト選好性を明らかにするためのヒノキ・ツブラジイ林調査地(岐阜市石谷)を設けた。調査地内から、土壌ブロック(30cm×30cm×10cm)を切り出し、ブロック内に含まれるツクバネの根の寄生箇所やホスト根の直径を調べた。2017年8月30日、10月26日と、2018年7月12日、10月3日の計4回おこなった。調査した順に調査木No.1~No.4とした。調査木の個体毎の最大樹幹長は35~130cmであった。

採取した土壌に含まれる根を室内にて水洗いし、ホスト根に固着したツクバネの寄生根を含むすべての根を取り出した。取り出した根のうち、寄生根がホスト根に固着していた箇所数を数え、それらの寄生根の最大幅(mm)、寄生根固着部のホスト根の直径(mm)、寄生根直上におけるツクバネ根の直径(mm)を計測した。ホスト樹種を特定するために、寄生根が固着していたホスト根を-60℃で冷凍保存した。根のホスト樹種またはホスト候補木樹種を、根の試料からDNAのmatKとrbcL領域を用いて、DNAバーコーディングの手法により特定した。さらに、多量のサンプルを解析するため、DNAバーコーディングによらない根の抽出液の吸収スペクトルの特性によって、ツクバネのホスト樹種を明らかにする手法を用いた。

(3) ツクバネの果実散布距離調査

ツクバネの果実にマーキングし、ツブラジイ林(岐阜市金華山)、ツブラジイ・ヒノキ林(岐阜市石谷)において、果実の散布距離を野外で測定した。石谷と金華山のツクバネ群落から、

果実をつけているツクバネを任意に6個体ずつ選んだ。選んだ個体の果実に蛍光塗料を塗布した。なお、蛍光塗料を塗布した果実は、苞が4枚揃っており、苞が開いた状態であり、落下時に回転すると思われるものとした。落果後に果実の母樹が特定できるよう、個体ごとに異なる色(桃、赤、橙、黄、緑、青)の蛍光塗料を塗布した。果実の落果後、母樹の周辺においてハンディブラックライト、ブラックライト蛍光灯、暗視スコープを用いて夜間に果実を探索し、散布距離と散布方向を測定した。探索範囲は最大で母樹から半径30mの範囲とした。散布距離は母樹の根元から落果地点までの水平距離と定義した。落果地点から母樹の根元を見たときの角度を計測し、散布方向を求めた。また、本調査において、果実に塗布した蛍光塗料を夜間にブラックライトで照らして光らせる手法は今までに例がなく、どの程度果実の発見に有効なのか明らかになっていない。蛍光塗料でマーキングしただけの果実を昼間に探した場合と、夜間にブラックライトで発光させて探した場合とで果実の発見数を比較した。調査地は岐阜大学柳戸試験林とし、試験林内で地表がリターで覆われている場所に半径10mの円形プロットを設置した。円形プロット内に蛍光塗料を塗布したツクバネの果実を任意に20個、ばらばらにまいた。直後に円形プロット内のツクバネ果実を3名で10分間探索した。ただし、果実をまく人と探索する人は別人とした。果実の設置と探索を昼間と夜間に5回ずつ繰り返しおこない、それぞれ発見できた果実の個数を記録した。ただし、10分以内にすべての果実を発見できた場合は所要時間も記録した。なお、昼間の探索は太陽光のもと目視のみでおこない、夜間の探索はブラックライト蛍光灯を用いた。

調査地や開けた場所において、風速を測定しながら、人工的に果実を散布し、その散布距離を測定した。さらに、果実の散布に有効な風速を明らかにするため、実験的に果実に風をあて、果実が枝から離脱するのに必要な風速を測定した。加えて、果実の二次散布の可能性について検討するため、自動撮影装置によって動物による果実の持ち去りについて調査を行った。

4. 研究成果

(1) ツブラジイ林(岐阜市金華山)調査区には307幹、110個体のツクバネが分布していた。雌雄が判別できたもののうち、69幹31個体が雌、181幹56個体が雄であった。雄株に比べ雌株の樹幹長は短い傾向があった。調査プロット内に生育するツクバネの個体数を雌雄で比べると、雌のツクバネは31個体、雄のツクバネは56個体であり、雄のツクバネの方が25個体多く生育していた。幹数を比べると、雌のツクバネが69幹であるのに対して、雄のツクバネは181幹生育しており、雌雄の差は個体数で比べたときよりも大きく、雄のツクバネが盛んに萌芽をしていることがわかった。また、雄よりも雌の方が繁殖可能になるサイズが大きいのということが明らかになった。雌雄間で萌芽の勢いや繁殖開始サイズが異なるのは、生殖に使うエネルギー量の違いが関係していると考えられる。分布関数を用いて立木位置を解析したところ、ツクバネは集中分布しており、雄株、雌株とも同所的に集中分布していた。ツクバネの分布には全上木の分布との間に同所性はなく、樹種によっても同所性のあるものは確認されなかった。また、上木のサイズクラスによっても、同所性のあるサイズは存在しなかった。

直射光環境の分布と散乱光環境の分布を比較すると、直射光環境の分布は散乱光環境の分布に対して北東方向にずれていた。調査プロット内にはISFの値が高い場所が2カ所みられ、いずれも林冠が開いているギャップであると考えられる。直射光環境の分布が北東方向にずれているのは、直射光が林冠ギャップから調査プロットの林床へと射し込んだためであると考えられる。

直射光環境を説明変数に設定した場合に、応答変数であるツクバネの幹数の事後分布の中には収束していないものもあったが、ZIPモデルの計算の過程において生じる誤差であり、解析の結果に影響を与えるものではないと考えられた。モデルのdevianceやツクバネが生育していたメッシュの事後分布が収束していたため、ツクバネが生育していないメッシュの事後分布の収束の程度に関わらず、モデルは収束していると判断した。直射光環境および散乱光環境を説明変数にしてベイズ推定をおこなったところ、直射光環境を説明変数にした際は正の影響があったが、散乱光環境はツクバネの分布に影響を与えていないという結果となったことから、ベイズ推定の結果からツクバネの分布は散乱光よりも直射光によって決まることという結論を得た。

ツクバネ分布地には他樹種下層木が少ないことから、種子発芽によるツクバネの根のアレロパシー試験をおこなった。今回の実験においてツクバネには、ヒノキやタカノツメと同等の発根抑制能力、成長抑制能力があるものの、オニグルミのような強いアレロパシー活性は観察されなかった。実験結果より、ツクバネが他の植物の分布と排他関係にあるのは、アレロパシー作用によるものではないことがわかった。ツクバネが他の植物の生育に対して影響を与える方法の1つとして、寄生が考えられる。寄生をおこなう植物が、宿主の生育に負の影響を与えることは、草本植物では広く知られており、また、オオバヤドリギやスナヅルをはじめ、多くの報告がある。オニグルミと比較してアレロパシーの存在は極めて小さいか、無いと考えられる結果を得た。

以上のことから、ツクバネは明るい場所に局所的に独占分布しており、競争関係にある下層の他樹種をツクバネが衰弱枯死させる、あるいは、寄生しなければ下層木として生存が困難な

立地環境にツクバネが分布していることが示唆される結果を得た。

(2) ヒノキ - ツブラジイ林調査地 (岐阜市石谷) 内から、土壌基本ブロック (30cm × 30cm × 10cm) を切り出し、ブロック内に含まれるツクバネの根の寄生箇所やホスト根の直径を調べた。根のホスト樹種またはホスト候補木樹種を、根の試料から DNA の matK と rbcL 領域を用いて、DNA バーコーディングの手法により特定することには成功したが、多量のサンプルを解析するために根の抽出液による手法を主に用いて、ホスト樹種やホスト候補木を特定した。ツクバネの根系を掘り出し、ホスト候補木の樹種ごとの根の存在比と、ツクバネの樹種別の寄生箇所数を比較することで、ホスト選好性を定量的に評価した。ヒノキ - ツブラジイ林に生育するツクバネ 4 個体の根とホスト候補木根を土壌ごと採取し、ホスト根に固着した状態の寄生根約 800 個を得た。DNA バーコーディングおよび根抽出液の吸光度によりホスト樹種を特定した。

本研究で採取した調査木のホスト根は 99% 以上がヒノキとツブラジイであり、ホスト候補木根も 99% 以上がヒノキとツブラジイであったため、これら 2 種間での選好性を評価した。調査木のホスト細根への樹種別の寄生箇所数は、ツクバネ根周辺土壌におけるホスト細根の樹種別存在比から期待される値といずれも有意に異なり、ヒノキに 3 個体、ツブラジイに 1 個体、寄生が多いという結果が得られ、細根の寄生箇所数は、ツクバネ 3 個体はヒノキに、1 個体はツブラジイに有意に偏っていた。

ホスト根の直径は、寄生根の最大幅と有意な正の相関を示し、ツクバネ根の直径は、寄生根の最大幅と有意な正の相関を示した。寄生根が固着していたホスト根の直径は寄生していたツクバネの個体サイズによらず 95% 以上が 5mm 未満であり、また寄生根が形成されていた部分におけるツクバネ根の直径は個体サイズによらず 99% 以上が 5mm 未満であった。調査木のすべての寄生根 1,308 個のうち、約 40% の寄生根はホスト根に固着していない単独の状態であった。すべての寄生根の最大幅の分布と、非固着の寄生根の最大幅の分布は有意に異なり、非固着の寄生根は小さなものが多かった。ツクバネは個体サイズに関わらず、細根に小さな寄生根を形成している場合が多く、極端に太いホスト根に寄生根が固着している様子はほとんど観察されなかった。

以上のことから、ヒノキ - ツブラジイ林において、ヒノキ細根へ弱いホスト選好性を示すことが明らかになった。ツクバネのホスト根への寄生の成立には、ホストの細根の生産性が関係している可能性が考えられた。

(3) 自然条件での果実散布距離を 2 年間測定したところ、ツブラジイ林 (岐阜市金華山)、ツブラジイ・ヒノキ林 (岐阜市石谷) での調査全体を通して、蛍光塗料を塗布した 26 個体 991 個の果実のうち 82% にあたる 812 個の果実が散布され、うち 88% にあたる 716 個の果実を発見した。毎回の調査において 10% 程度の果実は発見できなかった。石谷調査地において、発見された果実の頻度は 0.5m ~ 1.0m にピークをもち、急激に減少した。石谷調査地の果実の 90% が母樹から 3.4m の範囲で発見された。金華山調査地において、発見された果実の頻度は 1.0m ~ 1.5m にピークをもち、なだらかに減少した。石谷調査地の果実の 90% が母樹から 4.4m の範囲で発見された。石谷調査地における果実の散布距離は平均値が 1.61m、最大値が 10.28m、最小値が 0.02m であった。金華山調査地における果実の散布距離は平均値が 2.07m、最大値が 12.43m、最小値が 0.01m であった。母樹の平均樹高が金華山調査地の方が低いにも関わらず散布距離は金華山調査地が有意に長かった。平均散布距離は、3m を越えておらず、ツクバネ果実の散布距離が非常に短いことが明らかとなった。

また、ツクバネ果実の散布距離を実験的な方法で確かめる野外散布実験では、平坦地や、風が吹き上がる斜面地などの条件で調査を行ったが、その散布距離は、平均で 1.0m となった。

果実の飛距離と風速との関係は、風速の上昇とともに飛距離が伸びていく傾向がみられた。一般化線形モデルによる解析の結果、説明変数に風速、果実重、上昇の有無を組み込んだモデルで AIC 値がもっとも小さくなり、果実の飛距離に対する風速と上昇の有意な正の効果、および果実重の負の効果が認められた。ベイズ推定の結果、一般化線形モデルでの解析結果と同様に、果実の飛距離に対する風速と上昇の有意な正の効果、および果実重の負の効果が認められた。個体差として設定したランダム切片の事後分布は、20 個体のうち 18 個体が 95% 信用区間に 0 を含んでいたため、有意な効果はないと判断した。2 個体については 95% 信用区間が 0 をまたがず、それぞれ有意な正の効果と負の効果が確認できた。正の効果が得られた果実の重さは 0.2805g、負の効果が得られた果実の重さは 0.3400g であった。場所差として設定したランダム切片の事後分布は、3 カ所共 95% 信用区間が 0 をまたいでいた。かつ平均値がほぼ 0 であった。

果実の二次散布の可能性について検討するため、自動撮影装置によって動物による果実の持ち去りについて調査を行ったが、果実の移動は確認されなかった。さらに、果実の散布に有効な風速を明らかにするため、実験的に果実に風をあて、果実が枝から離脱するのに必要な風速を測定し、平均で 4.6m/s の強さが必要であること確かめた。5 日間の計測で、果実が枝から離脱するのに必要な風速の最小値は 1.4m、最大値は 13.2m であった。

目視やナイトビジョンゴーグルを用いたツクバネの果実にマーキングした果実散布距離の探索方法の有効性を検討するため、人工的な環境で、目視でマーキングした果実の発見率と、マーキングしなかった果実の発見率を比較したところ、昼間の 5 回の調査において果実の発見数

は平均 7.6 個、合計で 38 個であった。昼間の調査における平均発見効率は 0.25 個/人/分であった。夜間の 5 回の調査において、果実の発見数は平均 19 個、全体で 95 個であった。うち 3 回目の調査においては 5.83 分(5 分 50 秒)で 20 個すべての果実を発見することができた。夜間の調査での平均発見効率は 0.69 個/人/分であった。マーキングした果実の発見率は 90%を超えたのに対してマーキングしなかった果実のそれは 40%弱であった。夜間にブラックライトを用いて実施してきた果実の散布距離の測定方法の高い有効性が確認された。

以上のことより、ツクバネの果実散布には一定程度の強い風が必要であることがわかり、森林内のような立木といった障害物がない場合でも、散布距離が非常に制限されていることがわかった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

桂友里枝・加藤正吾、半寄生植物ツクバネの空間分布を規定する因子、第 65 回日本生態学会大会、2018 年

西川優弥・花岡創・加藤正吾、ヒノキ-ツブラジイ林における半寄生植物ツクバネの宿主選好性、第 129 回日本森林学会大会、2018 年

桂友里枝・小見山章・加藤正吾、下層を優占する半寄生植物ツクバネの分布と光環境、第 63 回日本生態学会大会、2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕(計 0 件)

〔その他〕

6 . 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名：花岡 創

ローマ字氏名：(HANAOKA, So)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。