

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07539

研究課題名(和文) 琉球列島における被子植物の溪流環境への適応と発芽特性の分化

研究課題名(英文) Adaptation to riparian environments and differentiation in germination characteristics of the angiosperms in the Ryukyu Archipelago

研究代表者

傳田 哲郎 (Denda, Tetsuo)

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：50284948

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：琉球列島固有のアカボシツナミソウ(シソ科)は林縁や石灰岩の山頂部などに生育するが(陸型)、溪流沿いにも出現する(溪流型)。後者は植物体が矮小化し、葉の基部が楔形になるなど、溪流沿い植物の特徴を持つ。陸型と溪流型の発芽特性を比較したところ、陸型の種子は高温条件で発芽が極端に抑制されたのに対し、溪流型の種子は低温から高温まで幅広い温度条件で一斉に発芽することが示された。陸型は好適な発芽温度域で発芽することにより、実生が生存する確率を上げていると考えられる。一方、溪流型は温度を選ばず一斉に発芽することでいち早く根を出して固着し、水流により種子や実生が流される危険性を回避していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

溪流植物であるシダ植物のヤシャゼンマイについて胞子の発芽から配偶体形成までを近縁種と比較した研究では、ヤシャゼンマイの方が配偶体の成長が速いことが報告されている(Hiyama et al., 1992)。しかし、溪流沿い植物に見られる発芽特性の分化は、被子植物では我々が知る限り例がない。本研究は、van Steenis (1981)以来形態学的研究に偏向していた溪流沿い植物の進化に関する研究に新たな視点を加えるものとして、重要な一石を投じたと言える。Ecologyに掲載された溪流沿い植物に関する総説(Costa et al. 2020)においても我々の論文が引用され、紹介されている。

研究成果の概要(英文)：Scutellaria rubropunctata (Lamiaceae), which is an endemic to the Ryukyus, occurs both in terrestrial (T-type) and rheophytic (R-type) habitats. R-type is a dwarf plant with small diamond-shaped leaves, showing common features of the rheophyte. The germination pattern was compared between T- and R-types. The germination rate of T-type decreased as the temperature increased. Ungerminated seeds at higher temperatures germinated soon after the temperature was changed to 15 °C, indicating that the germination suppression was released after transfer to the optimal temperature. These results may suggest an asynchronous germination which is thought to reduce the risk of disturbance in fluctuating environments. In contrast, R-type germinated almost simultaneously regardless of the temperature, and reached a high germination rate in a relatively short period of time. R-type may increase their ability to settle quickly, and potentially reduce the risk of being swept away by rising river water.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：溪流沿い植物 発芽特性 ツナミソウ属 琉球列島 種分化

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

琉球列島における維管束植物の多様性を理解する上で、隔離された島嶼内で生じる様々な進化現象に関する研究は重要な意味を持つ。溪流環境への適応に伴う種分化も、島嶼内に隔離された植物の進化傾向として重要であると考えられた。

北琉球と中琉球に固有のアカボシタツナミソウ(シソ科)は、石灰岩地の山頂や日当たりの良い山地の林縁、海岸沿いの低地などに生育する多年生草本であるが、我々の調査により、しばしば溪流帯にも出現することがわかってきた。陸域の環境に生育するアカボシタツナミソウ(陸型)と比べ、溪流帯の個体(溪流型)は、葉が矮小化する、葉身が菱形で基部がくさび形になるなど、溪流沿い植物の特徴を持つことが明らかとなっている(吉村 他 2016)。我々が行った予備調査により、アカボシタツナミソウの陸型と溪流型は異なる発芽特性を持つことが示唆されており、このことが溪流環境への進出に伴って生じた適応形質である可能性が考えられた。

これまでに行われてきた溪流沿い植物に関する研究の多くが、狭葉現象の記載と、狭葉化が生じた要因を組織学的な観点から明らかにしようとするものである。狭葉化は溪流沿い植物を特徴付ける重要な適応形質であるが、溪流環境への適応現象は、生理学的、生態学的特性なども含め、これまで以上に幅広い視点から議論する必要があると考えられる。しかし、溪流環境への適応に関して狭葉以外の形質に着目した研究は、ほとんど行われていないのが現状であった。我々は、アカボシタツナミソウに関するこれまでの調査を通じ、種子の発芽特性に着目した研究が溪流環境への適応に関する議論に新たな切り口を与え得ると考えるに至った。

### 2. 研究の目的

琉球列島の島嶼をフィールドに、溪流環境に進出した被子植物の形態と発芽特性に見られる適応現象の実態を明らかにすることを最終的な目標とする。具体的には、1) アカボシタツナミソウについて陸型と溪流型の発芽特性の違いを明らかにすると共に、分子系統学的解析により溪流への適応が生じた経路を推定する、2) アカボシタツナミソウ以外の条件的溪流沿い植物について発芽特性の分化が生じているかどうかを明らかにする、3) これまで認知されていなかった条件的溪流沿い植物を探索して形態的特徴を明らかにする、の3点を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1) アカボシタツナミソウに関する研究

##### ① 種子の採集と発芽実験

林縁や石灰岩の山頂部など、降雨による河川からの影響を受けない場所(陸域)と、洪水によって植物体が頻繁に水流にさらされる場所(溪流帯)のそれぞれにおいて、アカボシタツナミソウの種子を採集した。採集は沖縄島と奄美大島の複数の産地で行った。

10℃、15℃、20℃、25℃、30℃に設定した温度勾配機能付恒温器(TG-180CCFL-5L E)内で、100日間継続して発芽実験を実施した。実験では、滅菌プラスチック製シャーレに濾紙を敷き、これに蒸留水を加えたものを発芽床として用いた。ろ紙は適宜給水を行い、常に湿った状態を維持しながら毎日発芽した個数を記録した。

##### ② 発芽抑制の検証

上記の発芽実験において、特定の条件下で100日間経過後も発芽しない種子が多く存在した。このことが、与えられた条件下での種子の発芽抑制によるものなのか、あるいは種子が死亡したことによるものなのかを検証するため、100日間の発芽実験が終了した後、最も高い発芽率を示

した 15℃に温度を変更し、再び 100 日間継続して発芽の有無を調査した。

### ③溪流型の分化経路に関する研究

奄美大島、徳之島、沖縄島で採集した材料について葉緑体 DNA の複数領域の塩基配列を決定し、種内多型を示す分子マーカーを探索した。得られた分子マーカーを用い、さらに材料の産地を増やして系統解析をおこない、溪流環境への適応的分化が時間的・空間的に独立して繰り返し起こった可能性について検証を試みた。

#### 2) 他の条件的溪流沿い植物の発芽特性に関する調査

種子島において 2020 年 3 月に行った調査において、アカボシタツナミソウの近縁種であるコバノタツナミが溪流帯に生育していることを確認した。調査時には開花が見られたものの、果実が確認できなかったことから、このうち 3 個体を採集して持ち帰り、琉球大学理学部において栽培している。すでに閉鎖花を多くつけ始めており、一部は結実して成熟した種子を採取することができた。現在、採取した種子を用いて発芽実験を進めるとともに、新たに結実した果実から継続して種子を採取しているところである。現時点で得られた種子数が少ないことから、発芽実験については、15℃と 30℃のみで行っている。それ以外の実験条件は、アカボシタツナミソウの時と同様である。

#### 3) これまで認知されていなかった条件的溪流沿い植物に関する調査

2018 年 6 月、種子島の大川田川上流（鹿児島県西之表市安城）において、溪流沿いに生育するコバノタツナミを探索した。この調査では降雨のため溪流帯に近づけず、最終的に 1 個体のみを採集できた。同時に、形態の比較に用いるため、海岸近くや内陸部にある田の畦や道路脇など、降雨時に水流の影響を受けない陸域の環境からもコバノタツナミを採集した。

大川田川で採集したコバノタツナミ 1 個体より葉を 5 枚採取し、葉身長、葉幅、葉脚角度を計測するとともに、鋸歯数を数えた。また、葉身長/葉幅で葉形指数を算出した。スキャナーで取り込んだ葉の画像を用い、Image J for Mac OS X を使用して葉面積を求めた。陸域の個体（4 産地 計 20 個体）からは 1 枚/個体の葉を採取して同様の計測を行った。

上記の調査とは別に、2020 年 3 月に種子島を再度訪れ、溪流帯に生育するコバノタツナミの調査を行った。この調査において多くの個体が溪流帯の岩上に生育しているのを確認するとともに、形態計測に用いる葉と花の採集を行った。現在、これらのサンプルの解析を進めているところである。

## 4. 研究成果

### 1) アカボシタツナミソウの発芽特性と分化

条件的溪流沿い植物である琉球列島固有のアカボシタツナミソウ（シソ科）に着目し、溪流沿いと陸域の個体群間に見られる発芽特性の違いを明らかにし、その適応的意味を議論した。

15℃、20℃、25℃、30℃の温度条件で 100 日間の発芽実験を行った結果、陸型の種子は 15℃で最も高い発芽率（92.6%）を示したが、高温になると発芽率は低下し、30℃ではほとんど発芽が見られなかった。一方、溪流型の種子は 15℃、20℃、25℃で 90%を超える高い発芽率を示し、30℃の温度条件においても 70%以上の高い発芽率を示した。どの温度条件においても溪流型の種子は播種後急速に発芽した。

高温時に発芽しなかった種子が生存しているかどうかを確かめるため、発芽実験終了後（100

日後)に温度条件を15°Cに変更し、継続して発芽の様子を観察した。その結果、100日間の実験期間中に発芽しなかった種子のほとんどが、15°Cの温度条件下で急速に発芽した。このことから、高温条件下では種子の発芽が抑制されていたと考えられる。

陸型の種子は高温条件下では発芽が抑制され、限られた温度域で発芽する傾向を示した。このことから、陸型は好適な発芽温度域で発芽することにより実生が生存する確率を上げていると考えられる。これに対し、溪流型の種子では温度による発芽抑制がほとんど見られず、幅広い温度条件で一斉に発芽する傾向が見られた。溪流型は温度を選ばず一斉に発芽することで、いち早く根を出して固着し、水流により種子や実生が流される危険性を回避していると考えられる。

こうした溪流環境に適応的な発芽戦略は初めての報告であり、成果を論文に取りまとめで報告した (Yoshimura *et al.* 2019)。溪流植物であるシダ植物のヤシャゼンマイについて胞子の発芽から配偶体形成までを近縁種と比較した研究では、ヤシャゼンマイの方が配偶体の成長が速いことが報告されている (Hiyama *et al.*, 1992)。しかし、溪流沿い植物に見られる発芽特性の分化は、被子植物では我々が知る限り報告がない。Yoshimura *et al.* (2019)に取りまとめた成果は、2020年4月に *Ecology* に掲載された溪流沿い植物に関する総説において取り上げられ、溪流環境への適応に関する新たな進化傾向として注目されている (Costa *et al.* 2020)。本研究は、van Steenis (1981) 以来形態学的研究に偏向していた溪流沿い植物の進化に関する研究に新たな視点を加えるものとして、重要な一石を投じたと言える。

葉緑体 DNA の6領域の塩基配列 (4329bp) に基づく分子系統学的解析の結果、アカボシタツナミソウは近縁種であるコバノタツナミと葉緑体 DNA ハプロタイプの多型を共有していることが明らかとなった。異なる分類群間で葉緑体 DNA のハプロタイプが共有されることについては、二次的接触とそれに引き続く交雑により浸透交雑が起こった可能性や、種が十分に分化しておらず、先祖多型を共有しているケースが考えられる。アカボシタツナミソウとコバノタツナミの分布域は大きく重ならず、地理的にある程度隔離されている。また、種子が島嶼間を移動するような長距離分散の能力を持たないことなどを考慮すると、両分類群間で交雑が生じているとは考えにくい。おそらくアカボシタツナミソウとコバノタツナミは分化してから十分な時間が経っておらず、先祖における多型を現在も共有しているのではないかと推測された。

アカボシタツナミソウの溪流型のうち、沖縄島北部の個体は同じ葉緑体 DNA ハプロタイプを持ち、これらが近接する産地の陸型個体と系統樹上でクラスターを形成した。吉村 他 (2016) はアカボシタツナミソウの葉の形態に島嶼間で違いが見られることから、アカボシタツナミソウの溪流環境への適応は、それぞれの島嶼ごと、あるいは水系ごとに独立して生じた可能性があるとしていた。今回の分子系統学的解析の結果も、アカボシタツナミソウの溪流環境への適応が島嶼ごとに独立して生じた可能性を示唆していると考えられる。さらに明確な結果を得るため、現在も解析を継続して進めているところである。

## 2) 他の条件的溪流沿い植物の発芽特性に関する調査

方法のところでも述べたように、種子島で採集した溪流沿いに生育するコバノタツナミから得た種子を用いて、現在発芽実験を開始したところである。今後さらに種子を採取し、継続して発芽実験を行う。得られた結果をアカボシタツナミソウと比較し、異なる分類群に同様の発芽傾向が見られるかどうかを議論して、論文に取りまとめる。

## 3) これまで認知されていなかった条件的溪流沿い植物に関する調査

2018年に種子島の大川田川で確認したコバノタツナミの生育場所は、降雨による砂礫の堆積

と侵食が繰り返されるために土壌が不安定な場所であり、植物が長期間安定して生育できる環境ではなかった。この調査時には激しい降雨による増水の影響で溪流に近づけず、発見した1個体以外にコバノタツナミを確認することができなかった。その後2020年に行った再調査において、アカボシタツナミソウの溪流型と同様、溪流沿いの岩盤上などにコバノタツナミが多く生育しているのを確認した。2020年に採集した個体については現在解析中であり、以下には2018年度に採集した個体の解析から得られている結果についてのみ記す。

大川田川の溪流沿いに生育していたコバノタツナミは若い蕾をつけた成熟個体であったが、種子島で採集した陸域の環境に生育するコバノタツナミに比べ、植物体は矮小であった。溪流沿いのコバノタツナミ1個体について葉の形態を調べたところ、葉身長が $0.98 \pm 0.10$ cm (平均  $\pm$  標準偏差)、葉幅が $0.81 \pm 0.11$ cm、葉形指数が $1.22 \pm 0.13$ 、葉面積が $0.60 \pm 0.13$ cm<sup>2</sup>、葉脚角度が $124.32 \pm 15.89^\circ$ 、鋸歯数は $7.80 \pm 0.45$ 個であった。一方、陸域のコバノタツナミ20個体の葉形を調査した結果、葉身長が $1.75 \pm 0.38$ cm、葉幅が $1.58 \pm 0.29$ cm、葉形指数が $1.11 \pm 0.10$ 、葉面積が $2.18 \pm 0.77$ cm<sup>2</sup>、葉脚角度が $191.86 \pm 15.76^\circ$ 、鋸歯数は $10.89 \pm 1.76$ 個であった。わずか1個体の観察ではあるが、溪流沿いのコバノタツナミは、陸域の個体と比較してすべての形質で小さな値を示した。すなわち、通常のコバノタツナミの葉が広卵形～三角状卵形で基部が浅い心形になるのに対し、溪流沿いのコバノタツナミは植物体が矮小で葉は小さく、葉身は基部がくさび形で菱形に近い形になり、鋸歯数も少なくなるなどの特徴を持つと考えられる。

大川田川の溪流沿いに生育していたコバノタツナミに見られたこれらの形態的特徴は、溪流型のアカボシタツナミソウを含め (吉村 他 2016)、溪流沿い植物に一般的に見られる形態的特徴と一致する。他の溪流沿い植物と同様、大川田川の溪流沿いに生育するコバノタツナミも、水流から受けるダメージを軽減するための適応的な葉形を獲得した溪流型個体であると考えられる。これまでコバノタツナミに溪流型が存在することは知られておらず、今回が初めての報告である。コバノタツナミが陸域と溪流帯の両方の環境に出現し、溪流帯に生育している個体には溪流沿い植物に特徴的な形質が見られたことから、アカボシタツナミソウと同様、本種も条件的溪流沿い植物であると考えられる。これまで知られていなかったコバノタツナミの溪流型が種子島において確認されたことは、隔離された琉球列島の島々における植物の種分化と多様性形成の一要因として、溪流環境への適応が重要な役割を果たしているという考えを支持すると思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yoshimura H, Arakaki S, Hamagawa M, Kitamura Y, Yokota M, Denda T	4. 巻 132
2. 論文標題 Differentiation of germination characteristics in <i>Scutellaria rubropunctata</i> (Lamiaceae) associated with adaptation to rheophytic habitats in the subtropical Ryukyu Islands of Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 359-368
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-019-01103-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 新垣昇吾・吉村光・濱川命・横田昌嗣・傳田哲郎
2. 発表標題 コバノタツナミとアカボシタツナミソウ（シソ科）の発芽特性の比較
3. 学会等名 沖縄生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tetsuo Denda
2. 発表標題 How do plants live on subtropical islands of the Ryukyu?
3. 学会等名 Workshop on Biodiversity of Taiwan-Ryukyu Archipelago in Department of Life Science, Faculty of Science, Chinese Culture University, Taipei（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

溪流沿い植物に関する以下の総説においてYoshimura et al. (2019) が取り上げられ、溪流帯への新たな進化傾向として、アカボシタツナミソウにおける発芽特性の分化が紹介された。

Costa et al. 2020. Global rheophytes data set: angiosperms and gymnosperms. Ecology (<http://doi.org/10.5281/zenodo.3549921>)

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----