

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H00620

研究課題名（和文）収蔵施設および分類群横断的調査に基づく博物館標本種子の発芽可能性の総合評価

研究課題名（英文）Comprehensive evaluation of germinabilities of seeds of herbarium specimens based on multi storage facilities and exhaustive taxon sampling.

研究代表者

志賀 隆（Shiga, Takashi）

新潟大学・人文社会科学系・准教授

研究者番号：60435881

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：複数の植物標本庫から複数の分類群の標本種子を得て、発芽実験および染色試験を試みた。これまでの研究を通じて、121科206種について評価を行い、24科32種90標本（15.5%の種）から発芽、61科102種402標本（同49.5%）で生存が認められた。発芽した標本は作製後約45年以内のものだったが、生存している種子は約60年が経過した標本においても多く確認された。生活史形質と発芽標本・生存標本の経過年数にも関係が確認された。8通りの標本作製処理を施して保存していた12種の種子に対して発芽・染色試験を行い、標本作製時の乾燥温度とその後の保存が種子の生存に影響を及ぼしていることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果の学術的独自性と意義は、植物の保全や育種などに対して標本を直接活用することができることを示し、博物館標本に対して生きた生物試料としての新たな価値を与えたことである。また、これからの博物館標本の採集方法、管理方法についても新しい提言を行った。これまで、博物館の標本を用いた研究は、標本からその種の分布および形態的、生理学的、分子生物学的、生態学的情報を読み取るものであった。

また、研究成果に関する企画展・講演会を複数回実施することによって、生物標本に対する市民の意識の向上に努めた。

研究成果の概要（英文）：Specimen seeds obtained from various herbariums were assessed for germination and viability. In previous studies, we evaluated 206 specimens from 121 families. Germination was observed in 90 specimens (15.5%) from 32 species in 24 families, while viability was confirmed in 402 specimens (49.5%) from 102 species in 61 families. Although germinated specimens were generally less than 45 years old, viable seeds were also found in specimens over 60 years old. A relationship between life history traits and specimen age was observed. Additionally, germination and tetrazolium staining tests were conducted on seeds of 12 species stored under eight different preparation treatments. The results revealed that drying temperature during specimen preparation and subsequent storage temperature significantly influenced seed survival.

研究分野：植物系統分類学

キーワード：植物標本 種子

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

博物館や大学の標本庫には 100 年以上前から現在までに採集された膨大な数の植物標本が収蔵されており、全世界には約 3.9 億点に上る標本が存在するとされている (Thiers 2019)。この中には、都市化などによりすでに失われてしまった種や集団の標本も残されている。植物標本には種子や胞子が残されているものが数多くあり、このような標本の種子 (以降、標本種子と呼ぶ) や胞子を発芽させることができれば、失われた種やその集団を復元することが出来るかもしれない (志賀 2013)。また、既に個体群のサイズが縮小してしまい遺伝的多様性が失われた集団については、種子から栽培した個体との人工交配によって、遺伝的多様性を回復させることができる可能性がある (Nakahama et al. 2015)。

著者らはこれまで、大阪市立自然史博物館の植物標本庫に収蔵されていた種子植物 131 種の標本種子の発芽試験を行っており、標本種子が少なからず生存していることを明らかにした (志賀ら 2017)。しかしながら、この試験に供された種数および科の数は種子植物全体の種数 (約 6,000 種) に対しては約 2%、科の数では約 30% (60 科/202 科) にとどまり、限られたものであった。また、特定の標本庫に収蔵されている標本を用いた結果であり、博物館施設の多様な収蔵環境を加味した評価とは言えなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、(1) どのような種、(2) どのような状態の標本種子が生存しているのか、また標本種子より (3) 復元された集団に含まれる遺伝的多様性を明らかにすることである。その為に、日本国内の複数の標本庫より標本種子を得ると共に、これまで調査が行われている 60 科 131 種に多数の分類群を新規に加えて分類群横断的な比較を可能にする。そして、標本種子由来の芽生えについて系統保存、展示による普及教育活動、野生復帰の検討を行い、(4) 博物館標本を基にした新たな生物保全のフレームワークを構築することとした。

3. 研究の方法

(1) どの種が標本の種子から発芽させることが可能なのか

これまで標本種子において発芽試験が行われてこなかった科を中心に 84 科 92 種を選抜し、各種 2~37 標本、合計 653 標本について、大阪市立自然史博物館、北海道大学総合博物館、東北大学植物園の各標本庫から標本種子を得て発芽試験を行った。試験は発芽条件に関する情報が無い場合に一般的に用いられる段階温度法 (Washitani 1987) を用いた。発芽が確認されなかった種子に対しては、胚の呼吸系酵素の活性をテトラゾリウム染色試験 (Elias et al. 2012) によって確認した。この分類群横断的な発芽試験の結果に基づいて、科や種が持つ系統的・形態的・生態的特徴と標本種子の発芽可能性との関係を検討した。

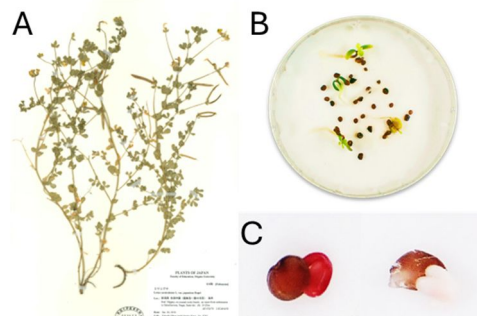


図 1. ミヤコグサを例とした発芽試験・テトラゾリウム試験の様子。A. さく葉標本。B. 発芽試験の様子。C. テトラゾリウム試験 (左: 赤く呈色した生存種子。右: 呈色しなかった死亡種子)。

(2) どのような状態の標本ならば利用可能なのか

採集年代、薫蒸処理の方法などにより、標本の状態は様々である。最適な標本作製・管理方法を明らかにするために、収蔵施設横断的な調査を行った種について、様々な標本作製処理を種子に施し、生存率を調査した。調査対象種とした 12 種 (イヌハギ、カンガレイ、キクモ、コガマ、コハコベ、タコノアシ、ナズナ、ヒメミソハギ、ピロードモウズイカ、ホシクサ、メマツヨイグサ、アカメガシワ) については、著者らが 2012~2013 年にかけて各種 600~100,000 粒について 8 通りの標本作製処理 (乾燥温度 3 条件×保存温度 2 条件×酸素 2 条件) を施し (平澤ら 2016)、新潟大学教育学部に保存していた。これらの種子に対して発芽・染色試験を行った。

(3) 復元された集団に含まれる遺伝的多様性の評価

今後、復元される集団の遺伝的多様性を評価するために、標本種子からの発芽実験に成功した中からミクリ属 (ガマ科) について、同属の種子の胚について遺伝解析が可能なかを検討した。検討にはミクリ属において開発されたマイクロサテライトマーカー (Pollux and Ouborg 2006) を用いた。

(4) 博物館標本から植物保全を行うフレームワークの構築

研究成果を社会にフィードバックし、生物多様性の保全や博物館標本に対する市民の意識・理解の向上につなげるために、研究代表者・分担者・協力者が所属する博物館や植物園において生品展示、講演会、企画展を開催した。

4. 研究成果

(1) どの種が標本の種子から発芽させることが可能なのか

これまでの研究を通じて、のべ121科(日本産種子植物全体の59.9%)、206種(日本産種子植物約6,000種の約3%)、1363標本(採集年代:1891年~2021年)について評価を行った。このうち、24科32種90標本(15.5%の種)から発芽、61科102種402標本(同49.5%)で生存が認められた。発芽が確認されたもののうち、特に標本作製から経過時間が長かったものは、ハス(44.0年)、ミヤコグサ(41.8年)、イヌハギ(38.3年)、ヒメミソハギ(31.6年)、スズサイコ(17.6年)であった。生存している種子は約60年が経過した標本においても多く確認された[例えば、ヒメヒゴタイ(86.7年)、ナズナ(80.1年)、ヤナギタデ(75.8年)、ピロードモウズイカ(64.8年)、ハマビシ(63.3年)]。発芽能力が低下もしくは失われた古い標本に対して、発芽を促進するホルモンの添加や、胚の組織培養による幼植物の取得を今後検討する必要があるだろう。

また、標本種子の生存と種の生理生態的特性の関係を検討したところ、草本種(148種、1095標本)に比べて、木本種(58種、268標本)では多くの種が死亡していた。また、一年草(54種、488標本)に比べて、多年草(94種、607標本)において多くの種が死亡していた。標本種子の発芽・生存は、野外での埋土種子の持続性に関連することを示唆したものであった。

草本を生育環境で海浜生(15種、63標本)、水生(43種、299標本)、湿生(33種、185標本)、草地生(34種、450標本)、山地生(30種、131標本)にタイプ分けした場合、各タイプ間に生存種の割合に違いは確認されなかったが、海浜生は他に比べて多くの種において生存(87%)、草地生は多くの種において発芽(32%)が確認された。また、発芽標本・生存標本の経過年数にも違いがみられ、標本種子の発芽・生存は、種子の乾燥耐性に関連することが示唆された。

(2) どのような状態の標本ならば利用可能なのか

調査対象とした標本作製処理から10年が経過した12種のうち、コハコベとアカメガシワを除いて80°Cの高温を経験した種子においても多少なりとも発芽・生存が確認されたが、多くは死亡していた。40°Cもしくは20°Cでの乾燥処理が種子の生存に対して適当かは、種により差がみられた。また、酸素条件では、どの種でも影響は確認されなかった。保存温度については、-20°Cで保存すると2種(コハコベとアカメガシワ)を除くすべての種で生存率が高かった。乾燥温度、保存温度について、40°C以下の温度で乾燥し、-20°Cで保存することで多くの種が高い生存率を示した。絶滅危惧種や希少種など、重要な種の標本の種子については、標本本体と

表1. 種子植物126科206種1,363標本における種子の生存数と割合.

生死	科	種	標本
生存	61	102	402
	(48%)	(50%)	(29%)
発芽	24	32	90
	(19%)	(16%)	(7%)
呈色のみ	37	70	312
	(29%)	(34%)	(23%)
死亡	65	104	961
	(52%)	(50%)	(71%)

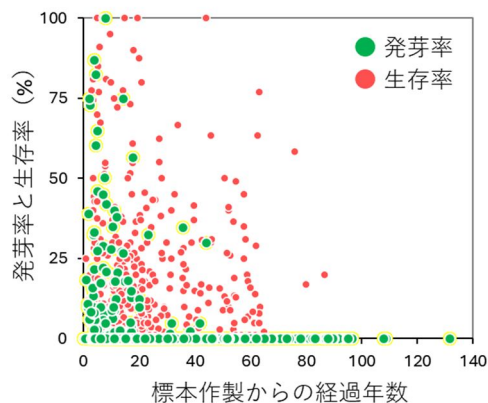


図2. 標本作製からの経過年数と発芽率・生存率の関係.

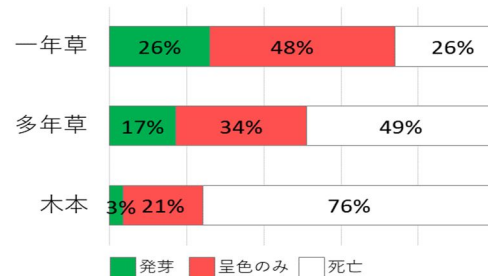


図3. 草本種(一年草・多年草)・木本種でタイプ分けしたときの発芽または生存していた種の割合. 一年草:54種488標本, 多年草:94種607標本, 木本:58種268標本,

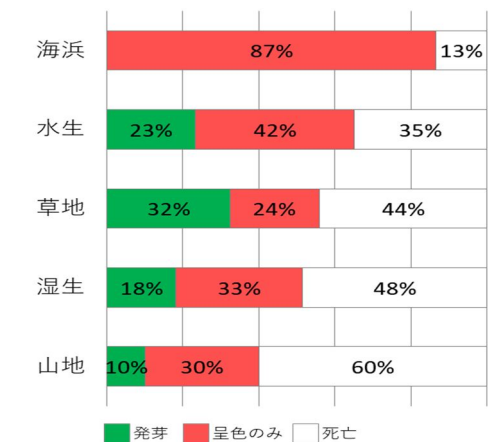


図4. 草本種を生育環境でタイプ分けしたときの発芽または生存していた種の割合. 海浜生:15種63標本, 水生:43種299標本, 草地生:34種450標本, 湿生:33種185標本, 山地生:30種131標本.

種子を収蔵時に分けて最適条件下で種子を保存することによって、長期間生存状態を維持することができると思われる。

(3) 復元された集団に含まれる遺伝的多様性の評価

ナガエミクリ、オオミクリ、ヤマトミクリの種子胚についてマイクロサテライトマーカー (Pollux and Ouborg 2006) の4遺伝子座 (SEM01、SEM05、SEM14、SEM15) において増幅および多型を確認した。しかし、各遺伝子座の対立遺伝子数は集団内で1~3と少なく、標本種子より復元された集団と元集団の遺伝的多様性を評価するには十分ではないと思われた。今後、MIG-seq法 (Suyama and Matuki 2015) など縮約ゲノム解読によって十分な多型を得て、標本種子胚の多様性解析を行う必要があるだろう。

(4) 博物館標本を基にした新たな生物保全のフレームワークを構築

本研究内容の一部を、新潟大学駅南キャンパスときメイト (2022年11月30日~2023年1月26日) と新潟県立植物園 (2023年4月22日~2023年5月4日) にて開催された企画展「植物標本は語る~新潟大学植物標本庫の歴史と収蔵コレクション~」、新潟大学旭町学術資料展示館 (2024年2月10日~3月24日) と新潟県立植物園 (2024年6月1日~6月30日) にて開催された企画展「生きている植物標本のタネ」、長岡市立科学博物館において開催された企画展「植物×鳥×ケモノ - なぜ集める? どう守る? -」(2024年5月1日~7月7日) において紹介した。また、東北大学植物園において関連する企画展示を行うことが決定した (2024年10月を予定)。更に、今回の研究成果を社会に還元するために講演会を2回 (2024年2月、3月) 実施した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 石黒皓大・大場拓郎・志賀 隆	4. 巻 16
2. 論文標題 緑色胞子を持つシダ植物3種（スギナ，ゼンマイ，クサソテツ）における標本胞子の発芽可能性の評価	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 新潟大学教育学部研究紀要 自然科学編	6. 最初と最後の頁 17-28
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 志賀 隆・内藤芳香・加藤 将	4. 巻 16
2. 論文標題 企画展『植物標本は語る～新潟大学植物標本庫の歴史と収蔵コレクション～』の展示内容と今後の課題	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 新潟大学教育学部研究紀要 自然科学編	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 志賀 隆・内藤芳香・加藤 将	4. 巻 17
2. 論文標題 企画展『生きている植物標本のタネ』の展示内容	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 新潟大学教育学部研究紀要 自然科学編	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杉本嶺司・加藤 将・志賀 隆
2. 発表標題 テトラゾリウム染色試験を用いた博物館標本種子の生存可能性と種特性の関係
3. 学会等名 陸水学会甲信越支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 志賀 隆
2. 発表標題 博物館標本は地域の自然のシードバンクとなり得るか
3. 学会等名 種生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田中美優・平澤優輝・加藤 将・志賀 隆
2. 発表標題 標本作製処理がカンガレイ（カヤツリグサ科）の種子に及ぼす影響
3. 学会等名 水草研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤 将・平澤優輝・伊東拓朗・首藤光太郎・佐藤妙子・志賀 隆
2. 発表標題 種子植物126科206 種の標本種子の発芽・生存可能性評価
3. 学会等名 日本植物分類学会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<ol style="list-style-type: none"> 企画展「植物標本は語る～新潟大学植物標本庫の歴史と収蔵コレクション～」，新潟大学駅南キャンパスときメイト（2022年11月30日～2023年1月26日）〔主催〕 企画展「植物標本は語る～新潟大学植物標本庫の歴史と収蔵コレクション～ in 新潟県立植物園」，新潟県立植物園（2023年4月22日～2023年5月4日）〔主催〕 企画展「生きている植物標本のタネ」，新潟大学旭町学術資料展示館（2024年2月10日～3月24日）〔主催〕 企画展「植物×鳥×ケモノ - なぜ集める？ どう守る？ - 」，長岡市立科学博物館において開催された（2024年5月1日～7月7日）〔共催〕 特別展示「植物標本展～生きている植物標本のタネ～」，新潟県立植物園（2024年6月1日～6月30日）〔共催〕 ギャラリートーク「植物標本のタネと生物保全」，新潟大学旭町学術資料展示館（2024年2月24日）〔講演者〕 公開講演会「標本庫知新 植物標本とそのタネの利活用と可能性」，北海道大学総合博物館（2024年3月23日）〔主催・講演者〕

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
研究分担者	伊東 拓朗 (Ito Takuro) (10827132)	東北大学・学術資源研究公開センター・助教 (11301)	
研究分担者	首藤 光太郎 (Shutoh Kohtaroh) (60803723)	北海道大学・総合博物館・助教 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関