

平成 29 年 4 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450488

研究課題名(和文) 北方地域のランドスケープ素材としてのエンレイソウ属2種の発芽要求と生育地との関連

研究課題名(英文) Germination requirements and the relationships between them and habitats of two kinds of Trillium genus as the landscape material in the north area of Japan

研究代表者

近藤 哲也 (KONDO, Tetsuya)

北海道大学・農学研究院・教授

研究者番号：10153727

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：北海道のランドスケープ素材として有望な北海道に分布するオオバナノエンレイソウと九州の山地から東北・北海道に分布するエンレイソウの種子を同じ条件で発芽実験を実施した。両種子とも形態的生理的休眠を有していた。しかし、札幌市の温度ではエンレイソウは播種した年の夏に約半数の種子が発根して翌春に出芽した。残りの種子は冬を経過後に発根した。一方、オオバナノエンレイソウの種子は冬を経過しなければ発根しなかった。このことは、エンレイソウはオオバナノエンレイソウよりも発根のための低温要求が少ないことを意味している。これが、エンレイソウの分布がオオバナノエンレイソウよりも南方に広がっている理由の一つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Trillium camschatcense distributing in Hokkaido and Trillium apetalon distributing from mountainous region in Kyusyu to Hokkaido are considered as the promising landscape materials in Hokkaido. Germination of seeds of both species were tested under the same conditions. Both seeds have Morphophysiological dormancy. However, under the temperatures simulated Sapporo, radicles emerged from about half of seeds in T. apetalon during the summer in seeded year, and shoots emerged in the next spring. Radicles emerged from the remaining seeds after the winter. Radicles did not emerged from seeds of T. camschatcense if they had not experienced winter temperature. These mean that low temperature requirement for radicle emergence in T. apetalon is less than T. camschatcense. This could be one of the reasons why distribution of T. apetalon extend to southern region than T. camschatcense.

研究分野：農学

キーワード：エンレイソウ オオバナノエンレイソウ 種子 休眠 発芽特性 分布域

1. 研究開始当初の背景

大規模な春植物の群落景観は、北海道の春の特徴的なランドスケープであり、北方地域特有のランドスケープを形成する上でこれらの春植物の保全と利用に関する情報の蓄積は、欠かすことのできない重要課題である。希少種でもなく、人間の生活圏で比較的普通に見られる植物ではあるが、地域の景観形成にとって重要な春植物が、北海道では都市近郊または市街地にさえまだ残されている。つまり、北海道には、かつての生物多様性がまだ身近に残っているのである。

2010年の生物多様性条約第10回締約国会議において、生物多様性促進のための戦略目標が掲げられたことから、地域特有の野生植物を保全するとともに活用しようという機運はますます高まりつつある。しかし、それら有望な野生植物の基本的な生活史や繁殖様式そして実用的な増殖方法に関する情報はまだまだ不足している。

申請者は、これまで多くの野生植物の発芽生態、種子休眠、苗の増殖、群落の植生管理などについて知見を積み重ねてきた。また、これまでの6回の科学研究費補助金によって、カタクリ、キバナノアマナ、エゾエンゴサク、オオウバユリ、フクジュソウさらにオオバナノエンレイソウ、スズラン等の種子休眠に関する基礎的な情報とともに応用的な知見を *American Journal of Botany*, *Canadian Journal of Botany*, *Seed Science Research*, *Landscape and ecological engineering*, ランドスケープ研究, 日本緑化工学会誌 など国内外の学会誌に発表しており、国際的にも高い評価を得ている。

興味深いことに、これらの北方系春植物の種子は、いずれも種子散布時には胚が未発達であり、高温 中温 低温 中温のようなくつかの温度推移を経験することで始めて、胚が生長し、発根、出芽(地上への子葉の出現)に至る。このような種子は形態生理的休眠(Morphophysiological dormancy, 以下MPD)という休眠に分類され、その中でさらに9つのタイプに分けられている。

北海道には、主に北海道に分布するオオバナノエンレイソウ(*Trillium camschatcense*)と九州の山地から東北・北海道にかけて分布するエンレイソウ(*Trillium apetalon*)の大規模な群落が認められる。

オオバナノエンレイソウについては、すでに申請者らによって、種子散布後、第一回目の冬を経た翌年9月に発根し、さらに第二回目の冬を経た春に出芽する Deep simple double dormancy と呼ばれる休眠タイプを持つことが明らかにされている。一方、九州の山地から北海道に分布するエンレイソウは、種子散布後、約半数が、年内に発根し、第一回目の冬を経た春に出芽することが報告されている(Suzuki and Kawano, 2010)。このことは両種が同じ *Trillium* 属でありなが

ら、休眠のタイプが異なることを示している。

しかしながら、これらの二つの報告では実験の条件が異なっており、果して確かに両種の発芽要求が異なるのかどうか疑問が残る。そこで、本研究では、同じ条件の下で、オオバナノエンレイソウとエンレイソウ種子の発芽実験を実施し、その違いを明確にしたいと考えた。

2. 研究の目的

北海道の特徴的な植生景観を形成するオオバナノエンレイソウとエンレイソウを地域のランドスケープ形成に活用することを目的とする。

そのために明らかにすべき点の一つとして、種子の発芽特性がある。これまで申請者は、オオバナノエンレイソウは、種子散布から、胚生長、発根、出芽に至るまでに複雑な温度推移を要求するMPDの中のDeep simple double dormancy という休眠タイプを有していることを明らかにした。また同じ *Trillium* 属でありながら、エンレイソウは、オオバナノエンレイソウとは異なる休眠タイプを有することが既往研究で報告されているが、実験条件が異なっている。

そこで、本申請では、エンレイソウとオオバナノエンレイソウの種子を用いて、同じ条件下に設定した野外と室内において発芽実験を実施し、発芽特性と休眠の違いを明確にすることを目的とした。また、それらの間に明確に違いがあるならば、このような発芽特性と休眠の違いが、両種の分布域の違いと関連があるのかどうかについて考察することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 自生地からの種子採取

エンレイソウ

2014年と2015年の7月上旬に札幌市南区中ノ沢に自生していたエンレイソウの群落から手で触れると落ちる程度に成熟した果実を採集した。採種後2日以内に果実をガーゼに包んで水洗しながら手で揉むことによって種子のエライオゾームを除去した。エライオゾームを除去した種子は実験に供するまで純水に浸して20℃で保管した(以下、それぞれ2014年産エンレイソウ種子, 2015年産エンレイソウ種子と称する。)

オオバナノエンレイソウ

2014年と2015年の7月下旬に北海道大学構内に自生していたオオバナノエンレイソウの群落から手で触れると落ちる程度に成熟した果実を採集した。採種後2日以内に果実をガーゼに包んで水洗しながら手で揉むことによって種子のエライオゾームを除去した。エライオゾームを除去した種子は実験に供するまで純水に浸して20℃で保管した(以下、それぞれ2014年産オオバナノエンレイソウ種子, 2015年産オオバナノエンレイソウ種子と称する。)

(2) 野外における胚生長、発根および出芽の時期

エンレイソウ

調整直後の 2014 年産エンレイソウ種子を用いた。

胚生長を観察するためにそれぞれ 30 粒の種子が入った不織布の袋(以下、袋と称す)を 15 袋作成し、1 袋ずつ赤玉土を入れた 9 cm のビニールポットに深さ 2 cm で埋土した。同様に、発根を観察するために、40 粒の種子が入った 72 の袋をそれぞれ赤玉土が入った 9 cm のビニールポットに深さ 2 cm で埋土した。さらに、発根した種子を出芽実験に供するために、約 200 粒の種子が入った 7 つの袋を赤玉土が入った育苗箱に 2 cm の深さで埋土した。

胚生長の観察では、1 ヶ月毎に一つの袋を掘り上げ、15 粒の未発根の種子について、ミクロトームで切片を作成し、マイクロメータを装着した光学顕微鏡の元で、胚乳長に対する胚の割合を測定した。

発根の観察では、1 ヶ月毎に 4 つの袋を掘り上げ発根率を計算した。

発根の観察では、2014 年の 9 月から 10 月に 40-50%の発根が認められた(以下、初年度発根)。そこで、出芽(地上に緑のシュートが出現した時点)の観察では、初年度に発根した種子と翌年に発根した種子それぞれについて、出芽観察を行った。

初年度発根した種子の出芽観察では、2014 年 10 月 8 日に育苗箱に埋土しておいた種子の中から 1-2 cm の根長が出現した種子を選び、40 粒 4 反復で赤玉土を入れた直径 18 cm のポットに 1 cm の深さで播種した。観察は翌年雪解け直後の 2015 年の 4 月 1 日から 1 週間毎に行った。このときに未発根だった種子は、水洗後再度袋に入れて育苗箱に深さ 1 cm で埋土した。

次年度発根種子の出芽観察では、2014 年 10 月 8 日に未発根で当あったため再度埋土した種子を 2015 年 8 月 7 日に掘り上げ、根長が 2-5 mm 出現した種子を選別し 40 粒 4 反復で赤玉土を入れた直径 18 cm のポットに 1 cm の深さで播種した。観察は 2016 年の 4 月 1 日から約 1 週間毎に行った。

オオバナノエンレイソウ

調整直後の 2014 年産オオバナノエンレイソウ種子を用いた。

胚生長を観察するためにそれぞれ 30 粒の種子が入った袋を 15 袋作成し、1 袋ずつ赤玉土を入れた 9 cm のビニールポットに深さ 2 cm に埋土した。同様に、発根を観察するために、40 粒の種子が入った 72 の袋をそれぞれ赤玉土が入った 9 cm のビニールポットに深さ 2 cm で埋土した。さらに、発根した種子を出芽実験に供するために、約 200 粒の種子が入った 7 つの袋を赤玉土が入った育苗箱に 2 cm の深さで埋土した。

胚生長の観察では、1 ヶ月毎に一つの袋を

掘り上げ、15 粒の未発根の種子について、ミクロトームで切片を作成し、マイクロメータを装着した光学顕微鏡の元で、胚乳長に対する胚の割合を測定した。

発根の観察では、1 ヶ月毎に 4 つの袋を掘り上げ発根率を計算した。

既往研究によりオオバナノエンレイソウは、結実した年には数%以下の発根に留まり、ほぼ全ての種子は翌年の 9 月発根することが報告されている。本研究においても結実した年の 2014 年に 1.3%以下の発根が確認されたが 90%以上の種子は、2015 年の 7 月から 9 月に発根した。そのため、育苗箱に埋土しておいた種子の中から 2015 年 9 月 30 日に幼根が 0.5-1.5 cm の種子を選別し 40 粒 4 反復で赤玉土を入れた直径 18 cm のポットに 1 cm の深さで播種した。観察は翌年雪解け直後の 2016 年 4 月 1 日から約 1 週間毎に行った。

上述の胚生長、発根、出芽の観察に加えて地表面の温度をデータロガーによって記録した。

(3) 北海道札幌市と茨城県笠間市の気温を再現した恒温器内での発根

この実験では、エンレイソウ、オオバナノエンレイソウともに、2014 年と 2015 年の 2 回実施した。

温度処理区の設定に際しては、エンレイソウとオオバナノエンレイソウがともに生育している北海道札幌市の気温と、オオバナノエンレイソウは生育していないがエンレイソウは生育している茨城県笠間市の気温を再現した。すなわち、笠間市の温度は札幌市よりも 5 高く設定した。

エンレイソウ、オオバナノエンレイソウそれぞれについて、札幌市と笠間市において 7 月または 8 月に結実し、種子が散布されたと仮定した温度処理区を設定した。つまり、両種それぞれについて、4 つの温度処理区を設定した。

2014 年の実験では、札幌市、笠間市 7、8 月に播種後、翌年 2015 年の 11 月までの気温を再現した。2015 年の実験では、同様に 2016 年 11 月までの温度を再現して、発根調査を行った。

両種の種子をそれぞれ濾紙を 3 枚敷いた 9cm シャーレに 40 粒 4 反復で播種した。既往研究よりオオバナノエンレイソウは明条件より、暗条件の方で高い発芽率を示すことが明らかとなっていたため、播種後のシャーレは二重のアルミホイルで包んで光を遮断した。

発根調査は約 1 ヶ月毎に行い、種子から幼根が 1 mm 以上出現している種子を発根した種子と数えて除去した。

4. 研究成果

(1) 野外における胚生長、発根および出芽時期の調査

エンレイソウ

エンレイソウの種子は7月上旬に播種後、約半数がその年の9月から10月にかけて発根した(図-1)。これらのその年に発根した種子は第1回目の冬を経過後の4月に出芽した。残りの種子は第1回目の冬を経過した6月から8月に胚生長して発芽し、出芽は第2回目の冬を経た4月であった。発根率、出芽率ともに80%以上であった。

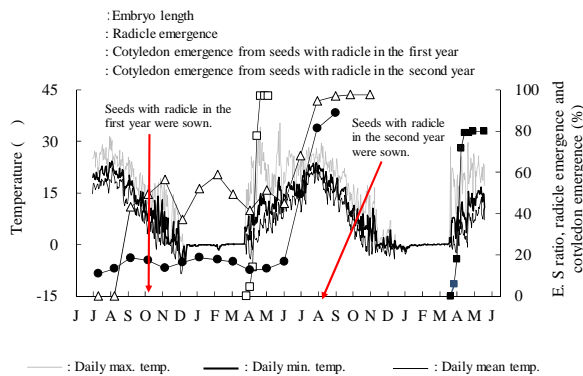


図-1 エンレイソウ種子の胚生長，発根，および出芽の時期

オオバナノエンレイソウ
オオバナノエンレイソウの種子は、7月下旬に播種後、第1回目の冬を経た8月から9月に胚生長して発根した(図-2)。発根した種子は第2回目の冬を経た4月に出芽した。発根率、出芽率ともに90%以上となった。

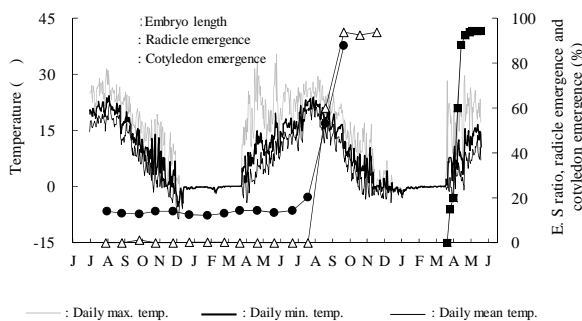


図-2 エンレイソウ種子の胚生長，発根，および出芽の時期

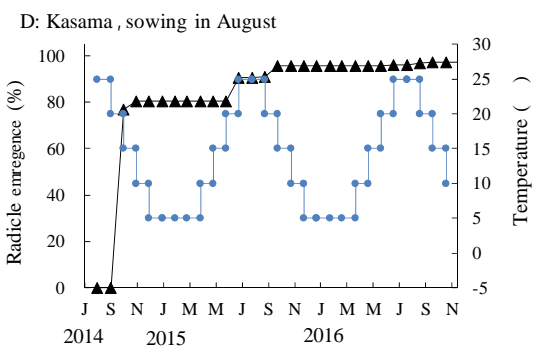
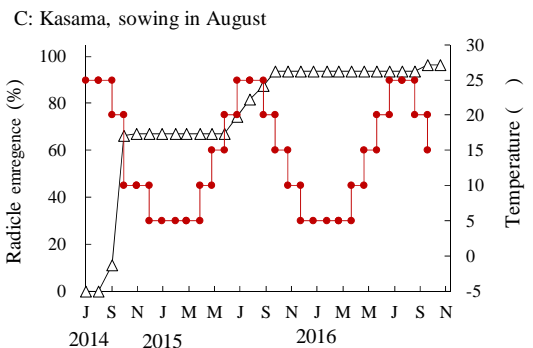
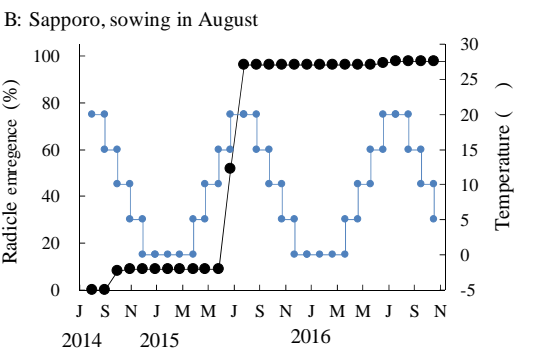
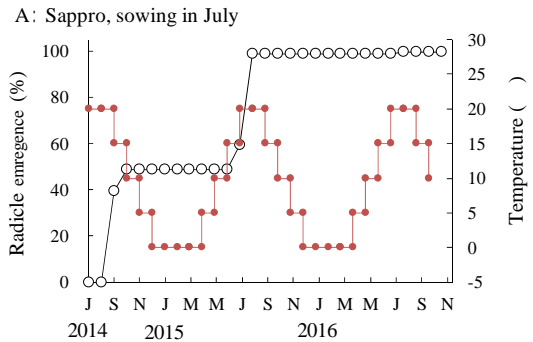
(2) 北海道札幌市と茨城県笠間市の気温を再現した恒温器内での発根

2014年産種子での実験

エンレイソウ種子において、札幌・7月播種を想定した温度推移では8月から10月にかけて年内に50%程度の種子が発根して、残りの種子は冬の低温を経過した後7月頃からほぼ全てが発根した(図-3)。札幌・8月播種では年内に発根した種子は10%程度と少なく、残りの種子は翌年にほぼ全てが発根した。

笠間・7月播種では、年内に発根した種子は70%近くに達し、残りの種子は翌年に発根した。一方、笠間・8月種子では、年内に80%

程度の種子が発根し、翌年には残りの種子も発根した。

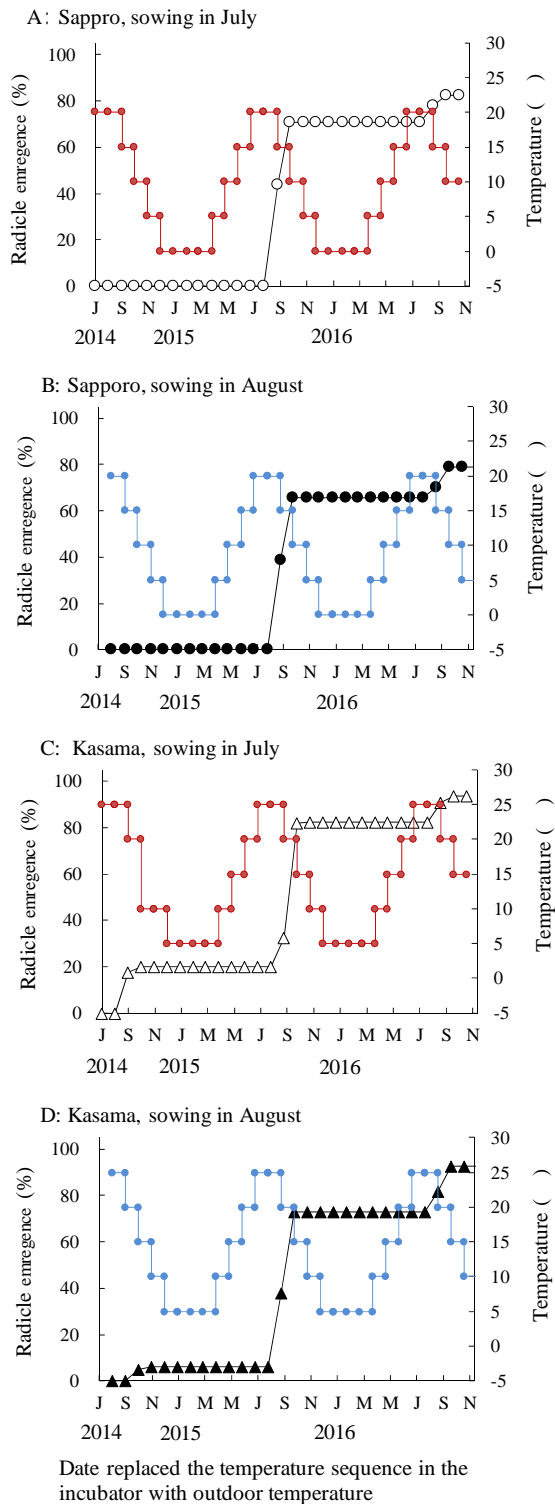


Date replaced the temperature sequence in the incubator with outdoor temperature

- A: Temperature sequence simulated to be sown in July in Sapporo city.
- B: Temperature sequence simulated to be sown in August in Sapporo city.
- C: Temperature sequence simulated to be sown in July in Kasama city.
- D: Temperature sequence simulated to be sown in August in Kasama city.

図-3 温度推移が2014年産エンレイソウ種子の発根に及ぼす影響

オオバナノエンレイソウの種子では、札幌・7月播種、札幌・8月播種ともに、年内に発根した種子はなく、冬を経過した翌年の



A: Temperature sequence simulated to be sown in July in Sapporo city.
 B: Temperature sequence simulated to be sown in August in Sapporo city.
 C: Temperature sequence simulated to be sown in July in Kasama city.
 D: Temperature sequence simulated to be sown in August in Kasama city.

図-4 温度推移が2014年産オオバナノエンレイソウ種子の発根に及ぼす影響

2015年8月から9月に約70%の種子が発芽した。播種後2年目の2016年には残りの15%の種子が発根した(図-4)。

笠間・7月播種では、年内に20%程度の種子が発根し、翌年の8月から9月にかけて合計80%の発根率を示した。しかし、笠間・8月播種では、年内に発根した種子はおよそ5%に留まり、翌年に約70%が発根した。播種後2年目の2016年にはさらに15%程度の種子が発根した。

2015年産種子での実験

エンレイソウの種子は、札幌・7月播種を再現した温度推移では8月から10月にかけて年内に36%の種子が発根して、残りの種子は冬の低温を経過した後7月頃からほぼ全て発根した(資料未記載)。札幌・8月播種では年内に発根した種子は15%であり、残りの種子は翌年にほぼ全てが発芽した。

笠間・7月播種では、年内に発根した種子は64%に達し、残りの種子は翌年に発根した。一方、笠間・8月種子では、年内に50%程度の種子が発根し、翌年には残りの種子も発根した。

オオバナノエンレイソウの種子は、札幌・7月播種、札幌・8月播種ともに、年内に発根した種子はなく、冬を経過した翌年の2016年8月から9月に約60%の種子が発根した(資料未記載)。

笠間・7月播種では、年内に30%程度の種子が発根し、翌年の8月から9月にかけて合計84%の発根率を示した。笠間・8月播種でも、年内に発根した種子は13%であり、翌年に79%が発根した。

(3) 得られた成果の国内外の位置づけとインパクト

本研究は、エンレイソウとオオバナノエンレイソウの種子発芽を同じ条件の下で調査し、発芽特性と休眠の種類の違いを明確にしてそれらと分布域との関連を考察することを目的とした。

両種とも種子の散布時には胚が小さく、胚成長から子葉の出現(出芽)までの段階で、異なる温度を必要とする形態生理的休眠を有する種子であることが確認できた。

札幌市の温度を再現した条件下では、エンレイソウは播種した年の内に、約50%の種子が胚生長して発根し、翌年に発芽した。残りの種子は冬を経過後に発根した。一方、オオバナノエンレイソウは、冬の低温が無ければ胚生長して発根せず、冬を経過後の夏に80%近く発根した。したがって、エンレイソウはオオバナノエンレイソウよりも発根のための低温要求が少ないと考えられる。このことは、エンレイソウの分布がオオバナノエンレイソウよりも南方に広がっていることと関連していることを示唆している。

一方、エンレイソウの生育が報告されており、札幌市よりも5 高く設定した茨城県笠

間市の再現温度では、エンレイソウの年内の発根率は60-70%に高まるとともに、札幌市の温度では年内に発根しなかったオオバナノエンレイソウでも、20%の種子が年内に発根し、冬を経過した翌夏には80%程度が発根した。このことは、オオバナノエンレイソウでも笠間市のように夏の気温が高い地域では、数10%の種子が年内に発根し、年内に発根できなくとも翌年には発根することを意味している。言い換えれば、オオバナノエンレイソウのMPDの種類は、与えられる温度によって変わり得ることを示している。これまでの研究では、MPDのタイプが、生育している場所の温度によって変わり得るとの報告は無い。この結果は、これまでの種子休眠の分類体系にとって重要な情報となる。

本研究では、2014年の「北海道札幌市と茨城県笠間市の気温を再現した恒温器内での発根」での結果を再確認するために2015年にも追試を実施した。そのため初めに計画した「発根した種子の出芽条件」に関する実験を実施できなかった。しかし、野外での調査によって、年内に発根したエンレイソウの種子も、一冬を経過した後に発根したエンレイソウおよびオオバナノエンレイソウの種子も、発根後は、一冬を経過した春に子葉を出現（出芽）することが示された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 哲也 (KONDO, Tetsuya)

北海道大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：10153727