

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 7 月 31 日現在

機関番号：24201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25430199

研究課題名(和文) 自家受粉依存を高める在来種：外来種からの繁殖干渉と遺伝的多様性低下の検証

研究課題名(英文) Enhanced self-pollination in a domestic herb: enaminations of reproductive interference from alien species and decreased genetic divergence

研究代表者

高倉 耕一 (Takakura, Koh-ichi)

滋賀県立大学・環境科学部・准教授

研究者番号：50332440

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)：植物の中には、他個体との花粉のやり取りを行う通常の花(開放花)のほかに、閉鎖花と呼ばれる自家受粉しか行わない花をつける種がある。ありふれた雑草であるホトケノザ(シソ科)の閉鎖花の機能について、訪花性昆虫や近縁他種植物との関係に注目して解明を試みた。まず、ホトケノザの送粉は、ヒゲナガハナバチなど極めて限られたハナバチ類に依存していること、それらのハナバチは各地で減少傾向にあることを示した。また、多くの集団で自家受粉率が著しく高いことを、アロザイム分析から明らかにした。近縁他種植物が近傍に存在する場合に閉鎖花が増加する反応が、水溶性の情報化学物質を介して誘導されることを、栽培実験から示した。

研究成果の概要(英文)：Some plants have closed-flowers (cleistogamous flowers), which exclusively engage self-pollination, besides ordinary open-flowers. We investigated the functions of closed-flowers in a common weed plant, *Lamium amplexicaule*, especially the interspecific relationships with pollination insects and closely related species. First, it is revealed that the pollination of *L. amplexicaule* relies on a few bee species, such as *Anthophora pilipes* and abundance of these bees has declined in many regions. Second, a series of allozyme analyses revealed that many populations of *L. amplexicaule* have reproduced dominantly via self-pollination. Finally, experiments using potted plants demonstrated that closely-related species, such as *L. album* var. *barbatum* and *L. purpureum*, induced closed-flowers to *L. amplexicaule* via some allelochemicals.

研究分野：生態学

キーワード：代替繁殖戦略 閉鎖花 虫媒花 訪花性昆虫 遺伝的多様性 外来種

1. 研究開始当初の背景

代表研究者らによる最近の研究により、在来植物 - 外来植物種間において、種間送粉による繁殖干渉が生じており、それが在来種の衰退要因になっている例が、タンポポ類 (Takakura et al., 2009; Matsumoto et al., 2010) やイヌノフグリ類 (Takakura and Fujii, 2015)、オナモミ類 (Takakura and Fujii, 2010) など複数の系で知られるようになってきた。しかし、それまでに知られていた系においては、在来種は影響を一方的に受けるだけで、外来種からの繁殖干渉に応じた対抗策を講じている例は知られていなかった。

一方、極めて普通な雑草であるシソ科雑草の一種ホトケノザでは、他個体からの送粉を一切受け付けない閉鎖花を生じることが以前から知られていた。代表研究者らによる研究により、この閉鎖花の割合が近縁外来種であるヒメオドリコソウの存在下ではほぼ100%にまで増加することが明らかにされていた (Sato et al., 2013)。しかし、閉鎖花の機能について、他種との相互作用の文脈での研究は過去になく、閉鎖花の機能を問い直す必要が有ることが示唆されていた。また、他種の影響では閉鎖花のみをつけるようになった場合には、集団内での遺伝的な交流が著しく阻害されることが予測されるが、その影響についてもこれまで議論されたことはなかった。

2. 研究の目的

上に述べたように、近縁外来種ヒメオドリコソウの存在により、ホトケノザはほぼ閉鎖花だけをつけるようになることが発見されていた。これを端緒として、本申請課題では、(1)ホトケノザやヒメオドリコソウの訪花者を特定したうえで、(2)ヒメオドリコソウがホトケノザに及ぼしている繁殖干渉を検証し、(3)ホトケノザの個体間遺伝的交流の頻度がヒメオドリコソウによって影響を受けているかどうかを調査することを目的とした。また、(4)ヒメオドリコソウがどのような機序によりホトケノザの閉鎖花の発現を誘導しているのかを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)訪花者の特定

西日本 (九州 - 近畿) の各地において、ホトケノザに訪花している昆虫類を採集・同定した。

(2)ヒメオドリコソウ - ホトケノザ種間の繁殖干渉

ホトケノザの柱頭に、ヒメオドリコソウの花粉を人工的に受粉させることで、ホトケノザの結実率や種子発芽率に及ぼす影響を評価した。ホトケノザは同花受粉の傾向が強いいため、つぼみの段階で予め薬を取り除く除雄処理をした上で人工授粉を行う処理も行った。

た。結実率を調べた後に、採取した種子を休眠解除処理後に播種し、発芽率を計測した。

植物種間の繁殖干渉は、他種花粉管の伸長や胚珠への侵入によって生じることがタンポポ類を対象とした研究により明らかになっている (Nishida et al., 2011)。そこで、ホトケノザ柱頭内におけるヒメオドリコソウ花粉管の行動を観察するため、ヒメオドリコソウ花粉を人工授粉したうえで花粉管を染色し、蛍光顕微鏡下で観察を行った。

(3)ヒメオドリコソウ侵入の有無とホトケノザの個体間遺伝的交流の頻度

ヒメオドリコソウの侵入によってホトケノザの閉鎖花が増加すれば、ホトケノザ集団内において同花受粉が卓越し、各遺伝子座におけるヘテロ接合度が低下することが予測される。この関係を利用し、アロザイム分析を行って、各集団におけるヘテロ接合度および自家受粉率を推定した。この分析には、ヒメオドリコソウが比較的早期に侵入した近畿地方 (滋賀県) と、最近侵入した中国・九州地方 (岡山県および福岡県) および未だ侵入が知られていない瀬戸内海の離島 (香川県) のホトケノザ集団を用いた。

(4)ヒメオドリコソウがホトケノザ閉鎖花発現を誘導する機序

ヒメオドリコソウと同所的に生育するホトケノザは、地上部が触れ合っていない場合でも、閉鎖花の割合がほぼ100%になることが明らかになっている (Sato et al., 2013)。このことから、ホトケノザは何らかのキューを利用してヒメオドリコソウの存在を認識し、閉鎖花を発現するのだと考えられる。そのキューの候補として、根系の物理的接触、根系における何らかの情報化学物質の受容を考え、ポット植えの個体を用いて以下の実験を行った。根系の物理的接触と情報化学物質の受容の双方が存在する状況として、ホトケノザとヒメオドリコソウを同じポットに植えた。また、情報化学物質のみが存在する状況として、ヒメオドリコソウだけを植えたポットから流出した水が、ホトケノザを植えたポットに流れ込むようにした。これらの処理により、閉鎖花の割合が変わるかどうかを調べ、ホトケノザ閉鎖花を発現するキューが何であるか推定した。さらに、ホトケノザの在来近縁種であるオドリコソウについても、ポットから流出した水をホトケノザのポットに導いて、ホトケノザの閉鎖花の割合の変化を調べる実験も行った。

4. 研究成果

(1)訪花者の特定

どの地域においてもホトケノザの現存量は極めて大きかったものの、その訪花者相は貧弱で、訪花頻度は極めて低かった。主な訪花者はケブカハナバチであり、その他にニッポンヒゲナガハナバチとシロスジヒゲナガ

ハナバチが観察され、この3種のみがホトケノザの訪花者であることが示唆された。ホトケノザ花筒と訪花ハナバチ類の口吻はいずれも著しく長く、ホトケノザはこれらのハナバチ類と緊密な送粉共生関係にあることが示された。また、訪花している個体がほとんどオスであることも特徴的であった。

しかし、ケブカハナバチは粘土質の崖などに営巣する種であり、かつては古い土塀などへ多く営巣することが知られていた。現在でも、古い町並みが残る集落やその周辺においては本種の密度が高く、ホトケノザへの高い頻度での訪花が認められた。しかし、それ以外の調査地では訪花者はほとんど、あるいは全く観察されなかった(図1)。このことから、ホトケノザの本来の繁殖は、特異的なハナバチ類が花粉媒介を担うことによって支えられていたものの、現在では人の住環境等の変化に伴ってそれらのハナバチ類が減少し、開放花であっても同花受粉が卓越するようになっていていると考えられた。

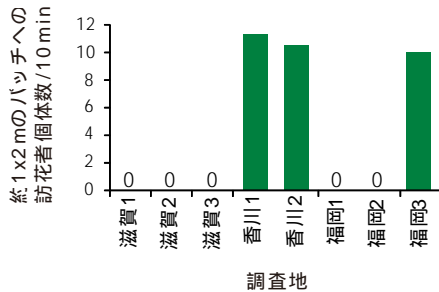


図1 ホトケノザパッチへの訪花頻度

滋賀1・2は平地の農地(それぞれ彦根市と東近江市) 滋賀3は山間農地(甲賀市) 香川1・2は離島の農地(いずれも粟島) 福岡1・2は平地の農地(香春町、田川市) 福岡3は山間農地(香春町)

(2)ヒメオドリコソウ - ホトケノザ種間の繁殖干渉

もしヒメオドリコソウからホトケノザへの繁殖干渉が存在すれば、ヒメオドリコソウ・ホトケノザ双方の花粉の混合物を、ホトケノザ柱頭に接種する人工授粉によって、ホトケノザの繁殖成功率、すなわち結実率および種子の結実率が低下することが予測される。3シーズンに渡って繰り返した実験の結果、ホトケノザの結実率はヒメオドリコソウ花粉の存在によって低下することはなかった(図2)。ただし、一部の集団については、結実率だけでなく発芽率も測定したところ、ヒメオドリコソウ花粉の存在によって、発芽率が低下することが認められた。これらの結果から、2種間に繁殖干渉が存在するとまでは言えず、今後は発芽率への影響についてより詳細な検証が必要であると考えられた。

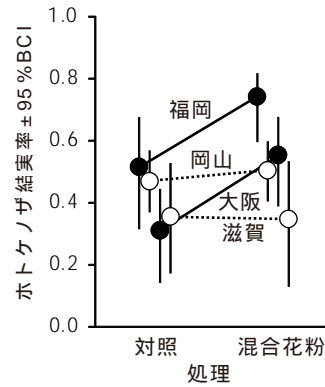


図2 ヒメオドリコソウ花粉の存在(混合花粉)によるホトケノザ結実率への影響

4集団について実施した実験の結果、いずれの集団についても混合花粉処理で結実率が低下するとはいえなかった。

ホトケノザ柱頭内におけるヒメオドリコソウ花粉管を観察したところ、ヒメオドリコソウ花粉管は柱頭内を伸長する過程で、形態の異常を生じ、胚珠までは到達しないことが観察された(図3)。このことは、タンポポ類などで知られていたような、異種花粉管の侵入に伴い胚珠が死亡するようなタイプの繁殖干渉がホトケノザ - ヒメオドリコソウ間には存在しないことを示している。



図3 ホトケノザ柱頭内で伸長を途中で停止したヒメオドリコソウ花粉管

柱頭の途中で花粉管の先端(矢印)が膨らみ、そのまま伸長を停止した。

(3)ヒメオドリコソウ侵入の有無とホトケノザの個体間遺伝的交流の頻度

ヒゲナガハナバチなどの訪花昆虫が頻繁に訪花していた香川県粟島のホトケノザ集団では、自家受粉率は低いであろうことが予測された。しかし、10遺伝子座についてアロザイム分析を行った結果、多型が全く見出されなかった。おそらく、集団サイズが小さいことから、遺伝的多様性が失われていたと考えられるが、このためにヘテロ接合度および自家受粉率を推定することはできなかった。それ以外の、本州や九州の本土地域の集団については、ヘテロ接合度および自家受粉率を推定することができ、それらに関しては、予想通り自家受粉率が極めて高いことが示さ

れた(表1)。

表1 アロザイム分析による自殖率 S の推定結果

N =解析個体数、 P =95%基準での多型的遺伝子座の割合(%)、 A =遺伝子座あたりの平均対立遺伝子座数、 He =期待される平均ヘテロ接合度、 Ho =観察された平均ヘテロ接合度、 F =平均固定指数、 S =推定自殖率

集団	N	P	A	He	Ho	F	S
滋賀	17	18.8	1.25	0.142	0.000	1.000	1.000
岡山1	48	50.0	1.52	0.121	0.025	0.647	0.786
岡山2	24	43.8	1.44	0.131	0.013	0.825	0.904
岡山3	24	37.5	1.38	0.155	0.052	0.591	0.743
岡山4	25	31.3	1.38	0.137	0.042	0.586	0.739
岡山5	22	12.5	1.13	0.022	0.019	0.412	0.584
香川	25	0.0	1.00	0.000	0.000	-	-
福岡	15	25.0	1.25	0.086	0.000	1.000	1.000

(4) ヒメオドリコソウがホトケノザ閉鎖花発現を誘導する機序

ヒメオドリコソウが植えられたポットから流出した水で灌水された別ポットのホトケノザは、対照(ホトケノザ別個体のポットから流出した水で灌水されたポット)のホトケノザよりも、圧倒的に多くの閉鎖花を付けた(図4)。この実験は、複数シーズンに渡って繰り返し行い、再現性が得られることを確認した。この実験設定では、ヒメオドリコソウとホトケノザの間に根系の接触はないことから、ヒメオドリコソウに由来する何らかの情報化学物質をホトケノザが受容し、それをキューとして閉鎖花の割合を増加させたと考えられた。

また、その反応はホトケノザの集団間で異なっていた。ヒメオドリコソウが早期に侵入した大阪のホトケノザ集団では、最近になってヒメオドリコソウが侵入した滋賀県や、まだほとんどヒメオドリコソウが侵入していない香川県の集団に比較して、より多くの閉鎖花を発現させた。このことは、ヒメオドリコソウとの同所定な生育の過程で、閉鎖花を多く発現させる形質が選択された可能性を示唆しているが、実験に用いた集団の数が少ないことから、より多くの集団を用いたさらなる検証が必要であると考えられる。

ヒメオドリコソウで観察された情報化学物質を介した閉鎖花の発現は、在来近縁種オドリコソウを用いた実験でも、傾向はやや弱いながらも観察された。ホトケノザはヒメオドリコソウと出会う以前から、在来他種のオドリコソウに対する同様の反応、つまり同属他種と同所的に生育する場合には閉鎖花を多く発現するという反応を持っており、それが外来種との接触によりより強く発現するようになった可能性が示唆された。

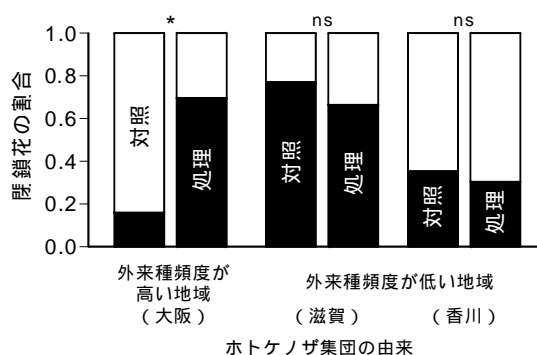


図4 ヒメオドリコソウが生育するポットから流出した水を灌水する処理が、ホトケノザ閉鎖花の割合に及ぼす影響。ホトケノザ別個体のポットから流出した水を灌水したものを対照とした。

なお、ヒメオドリコソウと同じポットで育成されたホトケノザは、閉鎖花の割合が極めて高くなるだけでなく、草丈が30 cm超から15 cm程度になり、草体が全体的に小さくなった。このことは、ホトケノザがヒメオドリコソウと同所的に生育することは、情報化学物質を介して単に閉鎖花を発現するだけでなく、個体の成長自体に対しても負の効果を及ぼしていることを示していた。

(5) 結論

ホトケノザは極めてありふれた雑草でありながら、その繁殖生態はごく限られた送粉昆虫、しかもそのオス個体によって担われているなど、特殊なものであることが本研究によって初めて明らかになった。また、現代の住居環境の変化により、それらの送粉昆虫相は多くの地域で極めて貧弱になっており、本研究で当初予想していた外来近縁種の影響がなくても、既に自家受粉が卓越するようになっていたことも明らかにすることができた。

本研究の主要な目的の一つであった繁殖干渉の検証については、明確な結論を導くことはできなかった。近縁外来種ヒメオドリコソウからの種間送粉によって、結実率は低下しなかったが、発芽率が低下する可能性が示唆された。この発芽率の低下は限られた集団で一度しか検証されていないため、今後さらに検証を進める必要がある。また、送粉昆虫相がよく保存されていた地域(香川県粟島)を見つけることができたが、この地域のホトケノザ集団では分析した全ての遺伝子座においてヘテロ接合度がゼロであり、既に遺伝的多様性が極端に低下していた。このため、当初検証することを目標としていた仮説、すなわち送粉者の存在によって遺伝的多様性が高められるかどうかについては、検証できなかった。

過去の研究で知られていたヒメオドリコソウ存在下でホトケノザ閉鎖花が卓越する現象については、その直接的なキューについ

て水を介して媒介される何らかの情報化学物質であることが示された。さらには、同じ作用を在来近縁種のオドリコソウも持っている可能性が示唆された。このことは、ホトケノザとオドリコソウという2種在来種の間何らかの相互作用が生じていたこと、ホトケノザはオドリコソウの存在下で閉鎖花を多く発現するような選択を受けていたことを示唆している。これについては、今後の検証が必要である。

現在では、ホトケノザは人家や畑の周辺に主に分布し、オドリコソウは林縁や原野等に分布する。このことから、直接的な相互作用を野外で観察することはできず、おそらくそのために2種の相互作用を検証した研究もなかった。しかし、現在の異所的な分布が相互作用の結果として成立したものであるならば、この2種の相互作用を明らかにすることは、在来種の現在の分布を理解する上で重要な知見になるであろうと考えられた。

5. 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計4件)

— 高倉耕一・弓削侑記・照井佳祐・内貴章世 (2015) 在来種ホトケノザは近縁外来種ヒメオドリコソウから繁殖干渉を受けない?, 第62回日本生態学会, 鹿児島市(2015年3月18~22日)

— 遠藤耕平・高倉耕一 (2016) ホトケノザの閉鎖花と花粉媒介者 - 訪花頻度は花の違いで変化する? -, 第28回日本環境動物昆虫学会年次大会, 上田市 (2016年11月11~13日).

— 高倉耕一, 遠藤耕平 (2016) ありふれた雑草ホトケノザの送粉者はありふれていない, 第63回日本生態学会, 仙台市 (2016年3月20~24日)

— 高倉耕一 (2017) ホトケノザの閉鎖花を発現させる至近要因としての近縁外来種ヒメオドリコソウ, 第64回日本生態学会大会, 新宿区 (2017年3月14日~18日).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高倉 耕一 (TAKAKURA, Koh-ichi)
滋賀県立大学・環境科学部・准教授
研究者番号: 50335440

引用文献

Matsumoto, T., Takakura, K. I., & Nishida, T. (2010). Alien pollen grains interfere with the reproductive success of native congener. *Biological Invasions*, 12(6), 1617-1626.

Nishida, S., Kanaoka, M. M., Hashimoto, K., Takakura, K. I., & Nishida, T. (2014). Pollen-pistil interactions in reproductive interference: comparisons of heterospecific pollen tube growth from alien species between two native *Taraxacum* species. *Functional ecology*, 28(2), 450-457.

Sato, Y., Takakura, K. I., Nishida, S., & Nishida, T. (2013). Dominant occurrence of cleistogamous flowers of *Lamium amplexicaule* in relation to the nearby presence of an alien congener *L. purpureum* (Lamiaceae). *ISRN Ecology*, 2013.

Takakura, K. I., & Fujii, S. (2010). Reproductive interference and salinity tolerance differentiate habitat use between two alien cockleburs: *Xanthium occidentale* and *X. italicum* (Compositae). *Plant Ecology*, 206(2), 309-319.

Takakura, K. I., & Fujii, S. (2015). Island biogeography as a test of reproductive interference. *Population ecology*, 57(2), 307-319.

Takakura, K. I., Nishida, T., Matsumoto, T., & Nishida, S. (2009). Alien dandelion reduces the seed-set of a native congener through frequency-dependent and one-sided effects. *Biological Invasions*, 11(4), 973-981.