

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：12604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440235

研究課題名(和文) 繁殖干渉による形質置換がもたらす植物の生態分化

研究課題名(英文) Ecological differentiation in plants via character displacement avoiding reproductive interference

研究代表者

堂園 いくみ (Dohzono, Ikumi)

東京学芸大学・教育学部・准教授

研究者番号：70462489

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：同所的に生育している近縁2種(シソ科ヤマハッカ属)を用いて、生殖隔離、繁殖干渉と形質置換の有無を明らかにすることを目的とした。自然状態の種子生産は異所的集団より同所的集団の方が低くなり、同所的集団の神戸岩では2種の開花ピークがずれていたことから、形質置換が生じていることが示唆された。核DNAを用いたヤマハッカ属の系統解析の結果、種ごとにまとまりがみられ、花筒長変異は複数の系統で生じていた。

研究成果の概要(英文)：We analysed reproductive isolation, reproductive interference, and character displacement in *Isodon umrosus* with the short corolla and *I. effusus* with the long corolla. Artificial pollination between two species revealed that seed production and seed germination were very low, suggesting that hybridization between these two species is maladaptive. Seed production of wild plants in sympatric population was lower than that in allopatric population, indicating that the reproductive interference between the species occur in the field. In a sympatric site (Kanoto-iwa), flowering phenology differed between the species, which may play a role in avoiding their reproductive interference. The molecular phylogenetic analysis based on nuclear DNA sequences supported the previous taxonomic treatment of the genus at the species level.

研究分野：送粉生態学

キーワード：送粉系 マルハナバチ 形質置換

### 1. 研究開始当初の背景

生態分化は、これまで資源競争と局所環境適応によって生じると考えられてきた。一方、繁殖干渉による形質置換を介した生態分化は、近年注目される現象であるがその実証例は未だ限られる。シソ科ヤマハッカ属 (*Isodon*) のイヌヤマハッカとタカクマヒキオコシでは、筒状の花の長さの地理的な変異が見られる (4-12mm)。同属のアキチヨウジ群 (14mm 以上の長い花筒を持つ) と同所的に生育している集団は花筒が短く、異所的な集団では花筒が長い。これまで、ヤマハッカ属の花筒長の地理的変異は、送粉者資源の分割 (短舌のミヤママルハナバチと長舌のトラマルハナバチ) による生態分化、つまり生態的形質置換である可能性が示唆されてきた。しかし、近年の調査結果は、送粉者相には変動があることに加え、花筒長にはたらく自然淘汰は、送粉者によって明確に異なるわけではないことが明らかになった。また、アキチヨウジ群と同所的に生育するイヌヤマハッカの花筒長は、ミヤママルハナバチの口吻よりさらに短くなっている。これは、イヌヤマハッカの花筒長変異は、訪花するマルハナバチ相だけでは説明できないことを示している。さらに、同所的に生育する場所では、口吻の長いトラマルハナバチがどちらの種の花にも訪花しており、葉緑体 DNA の解析結果は、ヤマハッカ属の種間における広範な交雑と遺伝子浸透を示している。これらは、繁殖干渉が起こりうる可能性を示唆するものである。

### 2. 研究の目的

シソ科ヤマハッカ属 *Isodon* 節の花は筒型であり、種間で花筒の長さに違いがみられる。主な送粉昆虫はマルハナバチであり、花筒の長さに応じて、口吻長の違うマルハナバチ種が対応していることがわかっている (Suzuki, 1992; Suzuki and Akazome 2000; Suzuki et al., 2007)。*Isodon* 節のカメバヒキオコシ (*Isodon umbrosus* var. *leucanthus*) の花筒の長さは 6-8mm、標高 700-1500m 付近に生育し、セキヤノアキチヨウジ (*Isodon effusus*) の花筒の長さは 12-17mm、標高は 300-1000m 付近に生育している。しかし、標高 1000 m 付近で同所的に分布していることが報告されている (Suzuki, 1992; Suzuki and Akazome, 2000)。カメバヒキオコシの主な送粉昆虫は、口吻の短いミヤママルハナバチ (*Bombus honshuensis*, ミツバチ科マルハナバチ属) であり、花筒と口吻の長さに対応が見られるが、標高 1000 m 付近では、口吻の長いトラマルハナバチ (*Bombus diversus*) の訪花が観察されている。一方、セキヤノアキチヨウジの送粉昆虫はトラマルハナバチのみであることが報告されている (Suzuki, 1992; Suzuki and Akazome, 2000)。カメバヒキオコシとセキヤノアキチヨウジの同所的集団では、トラマルハナバチ

を介して 2 種間で花粉の移動が起こることが考えられる。さらに、2 種間に生殖的隔離があれば、繁殖干渉が生じる可能性がある。ヤマハッカ属内では、交雑が生じることがわかっており、イヌヤマハッカ群やアキチヨウジ群が交雑の影響を受けている可能性が考えられる。系統的に群ごとまたは種ごとにまとまるかどうかは不明である。

そこで、本研究では同所的に生育するカメバヒキオコシ (以下カメバ) とセキヤノアキチヨウジ (以下セキヤ) 2 種において、繁殖干渉によって形質置換が起こっているか明らかにすることを目的とした。本研究では、以下の 4 つの項目について検討した。

- (1) 2 種間の交雑の可能性と生殖隔離
- (2) 同所的集団における繁殖干渉の検証
- (3) 同所的集団における形質置換
- (4) ヤマハッカ属の系統解析

### 3. 研究の方法

調査地は、奥多摩地域のカメバ単独集団・セキヤ単独集団・同所的集団それぞれ 2 集団を対象とした。

- (1) 2 種間の交雑の可能性と生殖隔離

送粉者の訪花頻度

各集団において、コドラートを設置した。開花の始まりから終わりまで、花数・訪花昆虫種・訪花花数を記録した。

人工受粉・発芽実験

カメバとセキヤそれぞれにおいて、同種交配と異種交配の処理をして、種子生産を比較した。交配でできた種子は発芽させて発芽率を測定した。

- (2) 同所的集団における繁殖干渉の検証
- 6 集団の自然状態の種子生産を比較し、同所的集団で種子生産が下がるかどうか検討した。

- (3) 同所的集団における形質置換
- 花筒長および開花フェノロジーの測定をした。

- (4) ヤマハッカ属の系統解析
- ヤマハッカ属 8 種 6 変種を採集し、葉緑体 DNA の非コード領域と核シングルコピー領域の塩基配列を決定し、系統関係を明らかにした。

### 4. 研究成果

- (1) 2 種間の交雑の可能性と生殖隔離

送粉者の訪花頻度

カメバにおいては、ミヤママルハナバチの頻度が高い集団と、トラマルハナバチの頻度が高い集団があった。セキヤはトラマルハナバチのみが訪花していた。同所的集団ではトラマルハナバチがカメバとセキヤに訪花していたことから、交雑の可能性があった。

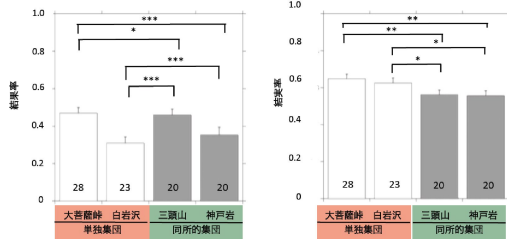
### 人工受粉・発芽実験

カメバが親の時、同種交配より異種交配の方が種子生産が低かった。また、異種交配によってできた種子の発芽率は、同種交配より低かった。一方、セキヤが親の時、異種交配で果実ができなかった。よって、2 種間では生殖隔離があった。

### (2) 同所的集団における繁殖干渉の検証

カメバとセキヤともに自然状態の種子生産（結果率・結実率）は、異所的集団より同所的集団の方が低かった（図1）。よって、自然状態では繁殖干渉が生じていることが示唆された。

#### カメバヒキオコシ



#### セキヤノアキチヨウジ

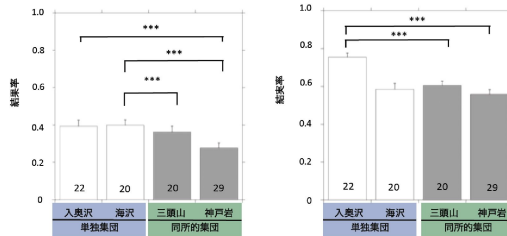


図1 カメバヒキオコシとセキヤノアキチヨウジの自然状態による種子生産

### (3) 同所的集団における形質置換

花筒長については、同所的集団と異所的集団で形質差は大きくなっていないかった。

開花フェノロジーについては、同所的集団の三頭山では開花ピークがほぼ同じだったが、同所的集団の神戸岩では、ピークがずれていた（図2）。よって、花形態には形質置換が見られなかったが、同所的集団で開花ピークがずれていたことから、開花フェノロジーの形質置換がおこなっていることが示唆された。同所的集団三頭山では、ミヤママルハナバチの頻度が高かったことから、送粉者による花粉移動が制限されており、繁殖干渉の機会が低いと考えられる。

### (4) ヤマハッカ属の系統解析

葉緑体 DNA の変異は種内で共有されておらず、TCS ネットワークでは種ごとにまとまらなかった。過去の交雑による葉緑体捕獲や、急速な種分化による不完全な系統ソーティングによるものと考えられる。一方、核 DNA によるネイバーネットでは4つのグループが形成され、種ごとにまとまる傾向が見られた。イヌヤマハッカ群やアキチヨウジ群は異なる系統群であった。

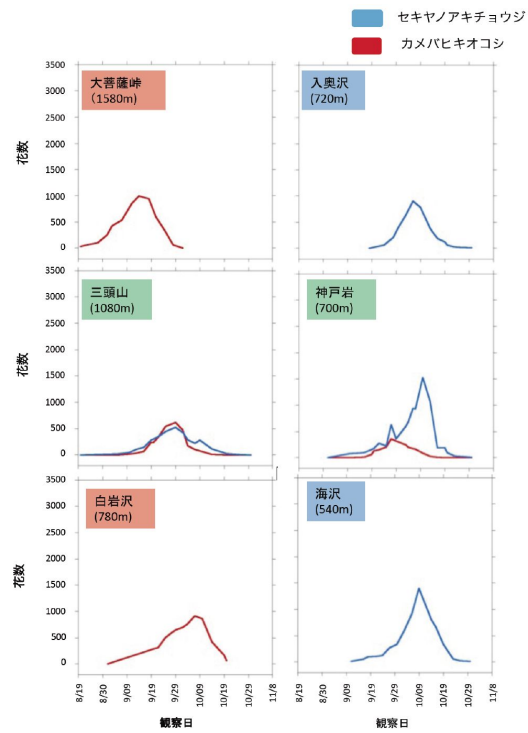


図2 各集団の開花フェノロジー

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

1. Dohzono I., Kaneko S., Yokoyama J. and Isagi Y. 2016. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Corydalis ambigua* (Papaveraceae). *Plant Species Biology* 31: 159-162. (査読あり) doi: 10.1111/1442-1984.12089.
2. Ushimaru A., Kobayashi A. and Dohzono I. 2014. Does urbanization promote floral diversification?: implications from changes in herkogamy with pollinator availability in an urban-rural area. *The American Naturalist* 184:258-267. (査読あり) doi: 10.1086/676855.

〔学会発表〕(計6件)

1. 荻嶋美帆, 堂園いくみ, 山城考, 永野惇, 堀江佐知子, 牧雅之. 日本産ヤマハッカ属の系統学的解析～葉緑体捕獲と不完全な系統ソーティングは見分けられるか～. 日本植物分類学会第16回大会, 京都大学(京都府・京都市), 2017年3月10日.
2. 荻嶋美帆, 堂園いくみ, 星野佑介, 山城考, 堀江佐知子, 牧雅之. タカクマヒキオコシとサンインヒキオコシの交雑帯における遺伝的・形態的変異の解析. 日本生態学会第63回大会, 仙台国際センター(宮城県・仙台市), 2016年3月22日.
3. 木村真美子, 堂園いくみ. 同所的に生育する近縁植物2種の生殖隔離と形質分化. 日本生態学会第63回大会, 仙台国際センター(宮城県・仙台市), 2016年3月22日.

4. 木村真美子, 堂園いくみ. 繁殖干渉による花形質の形質置換. 日本生態学会第 62 回大会, 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2015 年 3 月 19 日.

5. 荻嶋美帆, 堂園いくみ, 星野佑介, 山城考, 堀江佐知子, 牧雅之. タカクマヒキオコシ群 (シソ科) の花筒長変異と遺伝的分化. 日本生態学会第 62 回大会, 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2015 年 3 月 19 日.

6. 木村真美子, 堂園いくみ. シソ科ヤマハツカ属近縁 2 種の生殖隔離と形質分化. 第 46 回種生物学シンポジウム, 富士 Calm (山梨県・富士吉田市), 2014 年 12 月 6 日.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.u-gakugei.ac.jp/~dohzono/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堂園 いくみ (DOHZONO Ikumi)

東京学芸大学・教育学部・准教授

研究者番号: 70462489

(2) 研究分担者

牧 雅之 (MAKI Masayuki)

東北大学・学術資源研究公開センター・教授

研究者番号: 60263985

高見 泰興 (TAKAMI Yasuoki)

神戸大学・人間発達科学研究科・准教授

研究者番号: 60432358