

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18405010
 研究課題名 (和文) 日本と北米大陸における第3紀起源ユリ科 (広義) 植物の比較生活史研究
 研究課題名 (英文) Comparative life history studies on Arcto-Tertiary elements of Liliaceae (*sensu lato*) between Japan and north America.
 研究代表者
 大原 雅 (OHARA MASASHI)
 北海道大学・大学院地球環境科学研究院・教授
 研究者番号：90194274

研究成果の概要：日本と北米大陸に現在隔離分する広義のユリ科植物の中でも、日本の近縁種に関して、これまで詳細な生活史研究が行われてきた生態的背景がわかっている種群を対象に、繁殖様式ならびに個体群構造に関する、詳細な野外調査と分子マーカーを活用した遺伝解析を行った。その結果、さまざまな種群について有益なデータを得ることが出来た。特に、カタクリ属 (*Erythronium*)、スズラン属 (*Convallaria*)、バイケイソウ属 (*Veratrum*) に関しては、繁殖特性に関わる集団間ならびに集団内の他殖率の変異性、および個体群統計遺伝学の側面から、種子繁殖と栄養繁殖の寄与に関して、環境と生活史形質の変異の関係を明らかにすることが出来た。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2007年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2008年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
年度			
年度			
総計	13,300,000	3,990,000	17,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：生活史、第3紀要素、ユリ科植物、隔離分布、種分化

1. 研究開始当初の背景

北米大陸には、日本を含む東アジアとごく近縁な高等植物群が数多く隔離分布している。これまで、申請者らのグループでは、日本と北米東部・西部型の典型的な地理的隔離分布を示す第3紀要素の温帯要素の単子葉植物群の種分化、適応進化の機構を解明するために、分類学的、分子系統学的、個体群統計遺伝学的研究を行い、これらの植物群に関

する系統・類縁関係ならびに個体群の時空間的遺伝構造に関する理解を深めることができた。

近年、植物分類学・生態学の分野においても、AFLP分析やマイクロサテライトマーカーを活用した分子生物学技術の導入により、世界中の植物種に関して分子系統樹の構築や、花粉の移動による遺伝子流動の把握などその研究の進展はめざましい。しかし、そこ

には、それぞれの「種」を同一群集を構成する他の生物や物理的環境との相互作用の中で維持され、生きた実態としてとらえる「生活史」の概念が欠落している。従って、動物のように自ら積極的に移動することができない植物種が、繁殖し、子孫を残して生きている真の姿を明らかにするためには、分子マーカーを用いた解析と平行して、繁殖様式（有性繁殖・無性繁殖）や有性繁殖に関わる花粉媒介昆虫の行動などに関する、野外における詳細な実験・観察が必要である。

研究代表者である大原を含む本課題の研究組織グループは、その「生活史研究」の重要性を認識し、これまで日本国内の多様な植物群について、繁殖様式ならびに個体群構造を含む生活史特性を明らかにしてきた。しかしながら、それと同様のレベルの詳細な研究を海外に生育する植物群について行うのは、時間的・経費的な制約もあり、困難と考えられた。しかし、日本と北米大陸に適応放散して隔離分布をする近縁種の種分化、適応進化の実態に迫るためには、北米大陸に生育する種に関してもその生活史の実態の解明を避けて通ることができない段階に来ている。そのためには、日本と北米で隔離分布する第3紀要素の温帯要素の単子葉植物群の中でも、これまでの「海外学術調査」を通じて分類学的、分子系統学的、個体群統計遺伝学的研究成果の蓄積があり、かつ日本に分布する同一系統群の近縁種に関しては、その生活史が詳細に明らかになっていることが、3年間の研究期間で成果をあげるためにも重要と考えられる。

2. 研究の目的

本研究課題では、日本と北米大陸に現在隔離分する広義のユリ科植物の中でも、日本の近縁種に関して、これまで詳細な生活史研究が行われてきた生態的背景がわかっている種を選択し、袋かけ、除雄処理などの交配実験、花粉媒介昆虫の観察、遺伝マーカーによる他殖率の推定、など日本における植物の生活史研究のフィールド調査と遜色ない、詳細レベルのフィールド調査を北米大陸で展開しようとするものである。

このように、これまで蓄積してきた分類学、分子系統学、個体群統計遺伝学成果に加え、日本と北米大陸に隔離して生育している代表的な同一系統群内の近縁植物種の「生活史」の詳細が明らかになることにより、系統的制約 (phylogenetic constraint) と生育地の環境的制約 (environmental constraint)

の相互作用の中で、日本と北米大陸というそれぞれの異なる地域で生じた、植物の適応進化の全貌を明らかにすることを目的として行った。

3. 研究の方法

対象植物種ならびに調査地により、さまざまな研究方法を用いるが、以下の調査・解析を主たる方法として行った。

(1) 野外生態調査

各種の自生地へ赴き、生活史特性の中でも、特に繁殖特性は個体群構造ならびに個体群の遺伝的構造に多大な影響を及ぼすため、各種の自家受粉率、強制他家受粉での結実率、花粉と胚珠の比率、雄しべと雌しべの空間配列、開花時期を測定し、花粉媒介昆虫への依存度や自家受粉効率を評価する。また、結実期に種子を採集し、種子発芽特性を調査する。

(2) 遺伝解析

これまでの集団生物学では、個体群の遺伝的構造を把握する際の試料収集は、多くの場合集団から成熟個体のランダムサンプリングという手法を用いて行われている。しかし、本研究では、個体群動態調査に基づく時間的・空間的個体分布データをもとに、生活史段階の異なる各個体（実生、未成熟個体、成熟個体）から葉を採集して、AFLP 分析とマイクロサテライトマーカーを用い集団の遺伝的構造を把握する。

4. 研究成果

本研究を通じてさまざまな研究成果をあげることができた。個別の内容は次項の発表論文を参照されたい。

(1) 北米西部コロラド州ロッキー山脈の標高 3000 m に生育する高山性のカタクリ (*Erythronium grandiflorum*) を対象に、種子結実に関する調査を行った。その結果、個体の種子結実率が消雪時期の変動と連動し集団間・集団内の変異することが明らかになった。また、消雪時期の変動によってもたらされる開花時期の変動と集団の遺伝構造の関係を調査した。カタクリの結実期に種子を採集し、マイクロサテライトマーカーによる遺伝解析により、開花フェノロジーの差異と花粉親の多様性ならびに自殖率を算出した。その結果、消雪時期の変動により訪花昆虫相の

行動パターンに変化が生じ、その結果、花粉流動が制限され、集団内に遺伝的構造が生じていることが明らかになった。

(2) 北米東部に自生するスズラン (*Convallaria montana*)に関する野外調査では、ヴァージニア州の2集団において、それぞれ10m×10mの調査区を2カ所設置し、集団サイズ、成長段階を反映したラメットサイズ、地下茎の連結について調査を行った。採集されたサンプルは日本に持ち帰り、葉緑体DNA マーカーを用いて、北海道十勝地方から採集したアジア産スズラン (*C. keiskei*) と栽培されているドイツスズランの3種を対象に塩基配列の比較による系統関係の解析を行った。その結果、この3種は、明確な3つの異なる系統に分類されることが明らかとなった。

(3) また、日本国内にける第3紀起源の比較種としてスズラン (*Convallaria keiskei*) に関して、個体群の構造を把握し、その変化を明らかにするために、ラメットレベルでの個体群統計遺伝学的調査を行った。2集団内に1~2mのプロットを設置し、その中の地上シュートの位置を記録後、3年にわたり葉長、開花などをモニタリングした。さらに、マイクロサテライトマーカーを用いてこれらのクローン識別を行った。その結果、プロット内のラメットはほとんど単一の遺伝子型で、まれに異なる遺伝子型のラメットが存在していた。モニタリング調査により、シュートは同じ位置に出るにも関わらず、開花は毎年異なるラメットで生じることが確認された。また、クローン繁殖による更新は毎年持続的に行われている一方で、実生は限られた場所でのみ見られた。これより、集団の更新は主にクローン成長により行われるが、種子繁殖も集団の維持に関与していることが示唆された。Pair correlation 関数によるジェネット内のラメットの空間分布の解析から、密度の違いにより集中的な分布から30cmに及ぶ一定間隔分布まで認められ、空間分布には地下ランナーを伸ばすというクローン成長様式が大きく寄与していると考えられる。葉長に基づいたサイズクラス構造は正規分布的な形を示し、これにはクローン繁殖による更新が影響している。また、正規分布近似モデルによってこの構造を比較した結果、クローン間や同一クローンの年間での構造に違いが見られ、成長やそのパターンは異なることが示唆された。

(4) この他北米西部ロッキー山脈に生育する *Veratrum viride* の近縁種であるバイケイソウ (*Veratrum album* subsp. *oxysepalum*) の繁殖様式と個体群構造の調査を行った。その結果、種子繁殖は、一斉開花するジェネット間の交配により遺伝的に多様な実生を形成するが、実生が開花に至るには長い成長期間を要すること、一方クローン成長は、既存のジェネットを維持するとともに、幼植物期間をバイパスし、より早く確実に開花に至るラメットを形成する役割があることが明らかになった。

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9件)

- ① Kubota, S. and Ohara, M.
The evolution of self-compatible and self-incompatible populations in a hermaphroditic perennial, *Trillium camschatcense* (Melanthiaceae).
Journal of Plant Research 2009, 査読有 (in press)
- ② Araki, K., Shimatani, K. and Ohara, M.
Demographic-genetic studies of a clonal plant *Convallaria keiskei*: spatial structure and growth pattern of ramets and genets. Annals of Botany 2009, 査読有 (in press)
- ③ Kato, Y., Araki, K. and Ohara, M.
Breeding system and floral visitors of *Veratrum album* subsp. *oxysepalum* (Melanthiaceae) Plant Species Biology 24 :42-46. 2009, 査読有
- ④ Kubota, S., Kameyama, Y., Hirao, S. and Ohara, M.
Adaptive significance of self-fertilization in a hermaphroditic perennial, *Trillium camschatcense* (Melanthiaceae).
American Journal of Botany 95: 482-489. 2008, 査読有
- ⑤ Kato, Y., Araki, K., Kubota, S. and Ohara, M.
Development of microsatellite markers in a large perennial herb, *Veratrum album* subsp. *oxysepalum*. Molecular Ecology Resources 8: 996-997. 2008, 査読有

- ⑥ Araki, K. and Ohara, M.
Rhizomatous clonal growth and reproductive demography in *Convallaria keiskei*. Journal of Plant Research 121:147-154, 2008, 査読有
- ⑦ Yamagishi H., Tomimatsu, H., Ohara, M.
Fine-scale spatial genetic structure within continuous and fragmented populations of *Trillium camschatcense*. Journal of Heredity 98 (4): 367-372. 2007, 査読有
- ⑧ Ohara, M., Tamura, M., Hirose, T., Hiei, K. and Kawano, S.
Life-history monographs of Japanese plants. 7: *Polygonatum odoratum* (Miller) Druce var. *pluriflorum* (Miq.) Ohwi (Convallariaceae). Plant Species Biology 22:59-64. 2007, 査読有
- ⑨ Araki, K., Shimatani, K. and Ohara, M.
Floral distribution, clonal structure, and their effects on pollination success in a self-incompatible *Convallaria keiskei* population in northern Japan. Plant Ecology 189:175-186. 2007, 査読有

[学会発表] (計20件)

- ① 吉間綾子・大原雅
ツバメオモトにおける個体群構造の時間的解析. 第56回日本生態学会, 2009年3月19日, 岩手県立大学.
- ② 西澤美幸・大原雅
一回繁殖型植物オオウバユリの繁殖特性が集団遺伝構造に与える影響. 第56回日本生態学会, 2009年3月19日, 岩手県立大学.
- ③ 加藤優希・荒木希和子・大原雅
バイケイソウの一斉開花による個体群構造の変化. 第40回日本種生物学学会シンポジウム, 2008年12月6日, 茨城県守谷市デュープレックスセミナーホテル.
- ④ Kubota, Shosei ・ Ohara, Masashi
The evolution of self-incompatible and self-compatible populations in a hermaphroditic perennial, *Trillium camschatcense*: Which is the derivative?. BOTANY 2008, July 28, 2008, The University of British Columbia.
- ⑤ Yamagishi, Hiroki ・ Tomimatsu, Hiroshi ・ Ohara, Masashi
Edge effects on demography of a perennial understory herb, *Trillium camschatcense*, within small forest fragments. BOTANY 2008, July 28, 2008, The University of British Columbia.
- ⑥ Ohara, Masashi ・ Araki, Kiwako ・ Shimatani, Kenichiro
Growth and survival patterns of a monocarpic perennial herb *Cardiocrinum cordatum* var. *glehnii* (Liliaceae), based on the 13-year monitoring study. BOTANY 2008, July 28, 2008, The University of British Columbia.
- ⑦ 吉間綾子・大原雅
ツバメオモトの個体群構造と繁殖特性. 第72回日本植物学会, 2008年9月25日, 高知大学朝倉キャンパス.
- ⑧ 西澤美幸・大原雅
オオウバユリにおける栄養繁殖体形成の意義. 第72回日本植物学会, 2008年9月25日, 高知大学朝倉キャンパス.
- ⑨ 加藤優希・荒木希和子・大原雅
バイケイソウの繁殖特性と個体群構造. 第55回日本生態学会, 2008年3月15日, 福岡国際会議場.
- ⑩ 内藤弥生・佐藤志津子・大原雅
海進の影響を受けた石狩低地帯におけるオオバナノエンレイソウの集団分化に関する研究. 第55回日本生態学会, 2008年3月15日, 福岡国際会議場.
- ⑪ 石崎智美・大原雅
3倍体種間雑種シラオイエンレイソウの形成に関わる生態遺伝学的要因. 第55回日本生態学会, 2008年3月15日, 福岡国際会議場.
- ⑫ 荒木希和子・島谷健一郎・大原雅
クローナル植物スズランにおけるラメットの成長・更新とジェネット成長の関係. 第55回日本生態学会, 2008年3月15日, 福岡国際会議場.
- ⑬ 久保田渉誠・大原雅
オオバナノエンレイソウにおける繁殖様式の進化 - 自家和合性から自家不和合性の進化 -. 第39回種生物学シンポジウム, 2007年12月1日, 神戸市六甲山YMCA.
- ⑭ 荒木希和子・大原雅
一回繁殖型多年草オオウバユリの成長様式と死亡パターン. 第71回日本植物学会, 2007年9月9日, 東京理科大学野田キャンパス.

- ⑮ 加藤優希・荒木希和子・大原雅
林床性多年生草本バイケイソウ
(*Veratrum ablum* sub. *Oxysepalum*) の
生活史研究. 第 54 回日本生態学会, 2007
年 3 月 21 日, 愛媛大学.
- ⑯ 内藤弥生・大原雅・堀井雄治郎
東北地方におけるオオバナノエンレイ
ソウの集団分化に関する生態遺伝学的
研究. 第 54 回日本生態学会, 2007 年 3
月 21 日, 愛媛大学.
- ⑰ 荒木希和子・島谷健一郎・大原雅
スズランの地下茎によるクローン成長
が個体群の空間的構造に与える影響. 第
54 回日本生態学会, 2007 年 3 月 21 日,
愛媛大学.
- ⑱ 荒木希和子・島谷健一郎・大原雅
クローナル植物スズランの繁殖動態—
追跡調査と掘り取り調査から明らかにな
ったこと—. 第 38 回種生物学シンポ
ジウム, 2006 年 12 月 2 日, 奥琵琶湖マ
キノパークホテル&セミナーハウス.
- ⑲ 荒木希和子・島谷健一郎・大原雅
Clonal 植物スズランの開花ラメットの
空間分布パターンと繁殖成功. 第 70 回
日本植物学会, 2006 年 9 月 14 日, 熊本
大学黒髪キャンパス.
- ⑳ Araki, Kiwako・Ohara, Masashi
Effects of forest fragmentation on
herbaceous clonal plants.
International Symposium of how to
sustain agrosphere, biosphere and
geosphere, August 8, 2006, Hokkaido
University Conference Hall, Sapporo,
Japan.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大原 雅 (OHARA MASASHI)
北海道大学・大学院地球環境科学研究院・
教授
研究者番号：90194274

(2) 研究分担者

林 一彦 (HAYASHI KAZUHIKO)
大阪学院大学・経済学部・教授
研究者番号：60121753
工藤 岳 (KUDO GAKU)
北海道大学・大学院地球環境科学研究院・
准教授
研究者番号：30221930
工藤 洋 (KUDO HIROSHI)
京都大学・生態学研究センター・教授
研究者番号：10291569

北村 系子 (KITAMURA KEIKO)
独立行政法人森林総合研究所・北海道支
所・主任研究員
研究者番号：00343814

(3) 連携研究者