

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22455

研究課題名(和文)新たな送粉のコスト：送粉過程で花へ感染する微生物とその繁殖への影響

研究課題名(英文)Cost of pollination: Microbes on the flowers and their effects on plant reproduction

研究代表者

酒井 章子(Sakai, Shoko)

京都大学・生態学研究センター・教授

研究者番号：30361306

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：送粉生態学では、花は花粉を花から花へと運ぶ送粉者との関係を中心に研究が行われ、それ以外の生物との相互作用はあまり注目されてこなかった。しかし近年、送粉者は花粉ばかりでなく多数の微生物を花にもたらすことが明らかになってきた。それらの繁殖への影響は、ほとんどわかっていない。本研究では、これらの微生物が繁殖に影響を与えるのではないかと考え、調査と実験を行った。その結果、植物の花の上には、病原性を持つ細菌あるいはその近縁種が存在し、結実率に負の影響をもたらすことが示された。このことは、植物の繁殖に微生物が影響を与えてきたことを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物上には、地下部ばかりでなく地上部にも、さまざまな微生物が存在し、植物の生存、成長や繁殖にさまざまな影響を与えていることがわかってきた。本研究では、野生植物において、花の上の微生物が繁殖に影響を与えること、それらの微生物の一部は送粉者によって花にもたらされることを示した。この結果は、植物と相利共生の関係にある送粉者が植物に負の影響をもたらしていることを示し、送粉生態学に大きな影響を与える。

研究成果の概要(英文)：In pollination ecology, flowers have been studied mainly concerning pollinators, which deliver pollen from flower to flower, while interactions with other organisms have not received much attention. Recently, however, it has become clear that pollinators bring not only pollen but also many microorganisms to the flower. The effects of these microorganisms on plant reproduction are largely unknown. This study investigated the possibility that these microorganisms might affect reproduction by identifying floral microbiomes and conducting field experiments. We found that pathogenic bacteria and/or their close relatives are present in the flowers. When they colonize flowers, they can have negative effects on fruit production and result in systemic infection. The results suggest that microorganisms have influenced the evolution of floral traits and plant reproductive systems.

研究分野：生態学

キーワード：送粉 真菌 細菌 植物繁殖生態学

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

花粉の授受(送粉)は、被子植物が次世代を残すために必須の過程である。自ら移動できない植物は、花蜜や花粉で動物(送粉者)を誘引し送粉に利用するさまざまな仕組みを進化させた。この植物と送粉者の関係は、異なる生物種が互いに利益を与える相利共生のモデル系として、ダーウィンの時代から盛んに研究されている。一般に植物-送粉者共生系の研究では、送粉者は植物に利益のみを与えるものと考えられてきた。送粉者の訪花は多ければ多いほどよいとされ、送粉者の訪花が植物に与えるコストにはほとんど目が向けられてこなかった。これは、動物において、交尾のコストが雌雄のコンフリクトをもたらす繁殖戦略の進化に影響を与える重要な要素として盛んに研究されてきたことと対照的である。

送粉者が潜在的にもたらしうる負の影響の一つに、微生物への感染がある。植物の繁殖器官である花は、花粉を運ぶ昆虫などの送粉者を誘引して花粉の授受を達成するためのさまざまな仕組みを備えている。その結果として、訪花者や空気感染によってもたらされる多数の微生物(主に真菌・細菌)にも暴露されている。しかも花には、花粉の発芽床となる柱頭、花粉管の通路となる花柱、送粉者への報酬となる蜜など、微生物の増殖・成長に必要な水分や養分を含んだ組織がある。多くの微生物が植物の繁殖や成長に負の影響を与えるため、花上に運ばれた微生物は植物にとって大きな脅威となっているはずである。しかしながら、植物の有性生殖における微生物感染は、病徴の顕著な数例を除くとこれまでほとんど研究されていない。

2. 研究の目的

これまでの研究で送粉者は結実に必要な花粉ばかりでなく、大量の微生物をも植物にもたらすことが明らかになっている。そこで本研究では、細菌をターゲットとし、①花上の細菌叢を明らかにする、②空気感染と送粉者を介した感染の相対的重要性を明らかにする、③細菌が植物の繁殖に影響を与えることを示すことを目指す。

3. 研究の方法

トウダイグサ科アカメガシワ(*Mallotus japonicus*)およびショウガ科ハナミョウガ(*Alpinia japonica*)を用いる。両種とも気温・湿度が高く微生物の増殖が活発な6-7月に開花する。一方、感染リスクを左右する重要な要因である個花の寿命が大きく違う。雌雄異株であるアカメガシワの雌花の寿命は約1週間だが、ハナミョウガの両性花の寿命は約12時間である。また、アカメガシワは部分的に風によって送粉され、もっぱら昆虫に送粉されるハナミョウガと送粉者の相対的重要性が異なる。

① 花上の微生物(細菌)叢

花から超音波装置を用いて微生物を分離し、DNAを抽出する。ITS領域(真菌をターゲット)、SSU rRNAの515-806番の部位(細菌・古細菌をターゲット)をそれぞれ増幅し、Illumina MiSeqを用いて塩基配列を網羅的に解析する。得られた配列は解析パイプラインDADA2で解析し、微生物叢およびそれらの機能群を明らかにする。

② 空気感染と送粉者を介した感染の相対的重要性

各植物において、送粉者と空気感染双方を遮断する耐水紙袋がけ、送粉者を排除する網かけを行う。開花直前の花、および3つの処理区の開花後の花、送粉者の体表の微生物叢を調べ、それぞれの微生物の由来(植物由来、送粉者あるいは風による媒介)を推定する。

③ 微生物の繁殖成功への影響

ハナミョウガにおいて、開花後の花の表面から微生物を懸濁し、開花直後の花に接種した。開花から1ヶ月後にこれら4つの処理について結実した果実、種子の割合を評価した。受粉量が結実率に影響しないよう、すべての処理において開花中に他個体由来の十分な花粉を柱頭に受粉した。

アカメガシワについては、調査地でアカメガシワ斑点細菌病が頻繁に見られ、雌雄の花序からも分離されているので、これを分離培養し花序に噴霧接種した。定期的に接種した枝での斑点

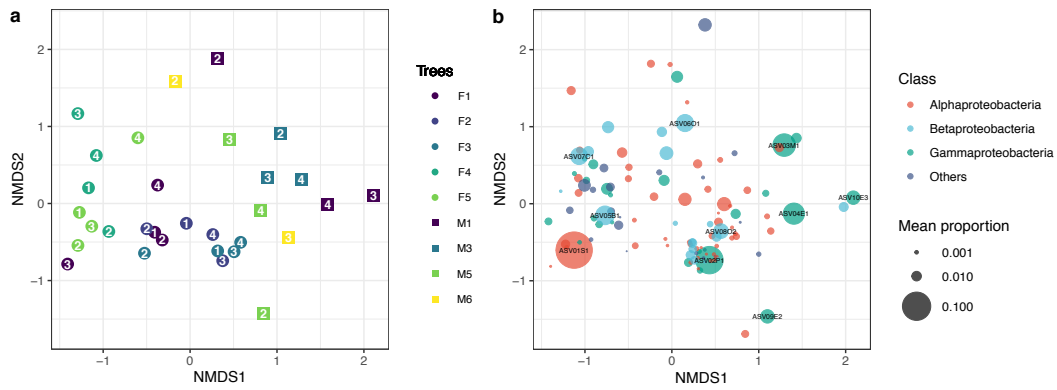


図1. アカメガシワの花の細菌叢の比較。a. NMDS (non metric multidimensional scaling) で、雄の花 (■) と雌の花 (●) の細菌叢がことなることが示された。色で個体、シンボルの中の数値で開花ステージを示している。b. a.のプロットに対応する各細菌 ASV。色は分類群、円の大きさは平均割合を示す。分析には多くのサンプルに出現する ASV のみを含めた。

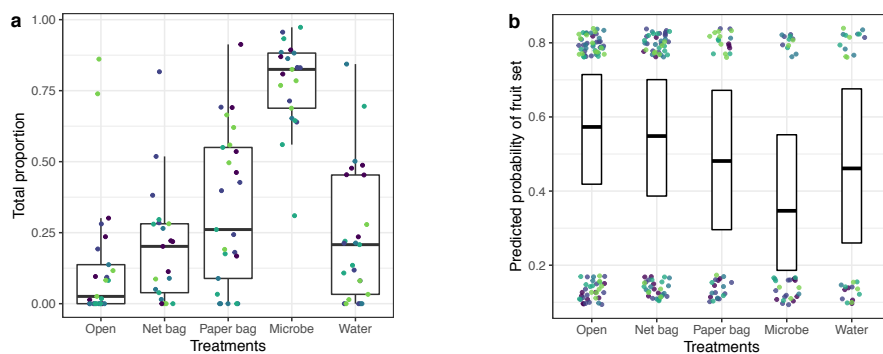


図2. ハナミョウガの花の細菌叢と結実率。a. 古い花の微生物を接種した花に多かった5つの ASV の割合の処理区間の比較。b. 各処理の結実率。Open: コントロール、Net bag: 網かけ、Paper Bag: 耐水紙の袋掛け、Microbe: 古い花の微生物接種、Water: 蒸留水接種。1つの点は1つの花に対応し、色で個体を示している。

細菌病の病徴の有無を調べるとともに、雌については結実率を蒸留水のみを噴霧したコントロールと比較した。

4. 研究成果

① 花上の微生物 (細菌) 叢

アカメガシワ・ハナミョウガ両種において、ガンマプロテオバクテリア、ついでアルファプロテオバクテリアが、もっとも有占する細菌群であった。ハナミョウガでは *Pseudomonas* 属、*Erwinia* 属、*Ochrobacterum* 属、*Cutibacterium* 属、あるいはそれらに近縁と考えられる ASV (Amplicon sequence variant) が多かった。

一方、雌雄異株のアカメガシワでは、雄花では Erwiniaceae に属する細菌が、雌花では Sphingomonadaceae に属する細菌が優占し、雌雄の花で細菌叢が大きく異なっていた (図1)。蜜を分泌し1、2日で寿命を終え落下する雄花と10日ほど咲き続け種子が成熟するまで3ヶ月木の上に残る雌花では、花の微生物に対する防衛強度や生理・化学的性質が異なるためだと考えられる。

② 空気感染と送粉者を介した感染の相対的重要性

アカメガシワ、ハナミョウガで、耐水紙袋掛けと網掛け処理の花序を比較すると、両者の微生物叢は袋・網をかけなかったものと有意に違っていた。しかしながら、頻度の多い ASV では袋・網をかけなかった花序のみで見つかったものではなく、共通していたことから、送粉者や空気による感染の寄与は、当初予想されたものほど大きくないことが示唆された。

③ 微生物の繁殖成功への影響

ハナミョウガでは、古い花からの微生物を懸濁したものを噴霧接種した花は、*Pseudomonas* 属や *Erwinia* 属の ASV が多く見られ、コントロールより結実率が低かった(図2)。結実率の低下は、これらの細菌の直接の影響である可能性のほか、今回分析を行っていない真菌の関与や微生物の環境変化の影響が考えられ、今後さらに研究を進めていく必要がある。

一方アカメガシワでは、特定の細菌を開花中の雌花、雄花に接種し、より直接的な効果を明らかにすることを試みた。接種の結果、雄個体、雌個体双方で病徴を示す枝が見られた。蒸留水のみを接種した枝では病徴は見られなかった。興味深いことに、病徴を示す枝は、雄より雌で多く見られた。雌では花が長期維持されることが、その理由かもしれない。また、結実率は、接種によって著しく低下した。これらのことから、アカメガシワ斑点細菌病は花器感染すること、雌の方がより感染しやすいことがわかった。雌花序での病原細菌の存在は結実率の低下も招くことから、雌の方が病原細菌への感染から大きな影響をうけることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Maxime MARRE, Masayuki USHIO, Shoko SAKAI
2. 発表標題 Contrasting microbiomes of male and female flowers of <i>Mallotus japonicus</i>
3. 学会等名 日本生態学会第67回全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shoko SAKAI
2. 発表標題 Different pathways for specialization under pollination dilemma
3. 学会等名 The 43rd New Phytologist Symposium Interaction networks and trait evolution (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Maxime MARRE, 潮雅之, 酒井章子
2. 発表標題 アカメガシワ斑点細菌 病の花器感染
3. 学会等名 植物病理学会関西支部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shoko SAKAI
2. 発表標題 Microbes on flowers and pollination
3. 学会等名 Sex and communities, Organized symposium at the joint meeting of the e-DNA society and the society for population ecology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------