

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月14日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21780152

研究課題名（和文） 昆虫体表付着花粉の直接遺伝解析による熱帯林一斉開花における送粉システムの解明

研究課題名（英文） Pollination system during a general flowering period in tropical rainforest revealed by single-pollen genotyping

研究代表者

近藤 俊明（KONDO TOSHIAKI）

広島大学・大学院国際協力研究科・助教

研究者番号：40391106

研究成果の概要（和文）：

新たに開発した花粉一粒の直接遺伝解析を用いて、個々の訪花昆虫に付着した花粉一粒ごとの遺伝的組成を評価することで、東南アジア熱帯雨林の一斉開花現象における送粉システムの解明を試みた。その結果、東南アジアの熱帯雨林では、アザミウマを中心とした食物連鎖網に基盤をなす他殖種子の生産によって森林の更新が行われていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

The pollination system of tropical rainforest tree *Shorea acuminata* during the general flowering period was investigated by using a newly developed microsatellite DNA analysis of single pollen grains adhering to pollinators. The genetic analysis of pollen grains suggested that predators of thrips contributed to the long-distance cross-pollination of *S. acuminata* trees. Thus, it was considered that such ecological food chain provided sufficient pollination service for *S. acuminata* during the general flowering period.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	1,800,000	540,000	2,340,000

研究分野：分子生態学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：一斉開花、熱帯雨林、送粉共生系、マイクロサテライト、森林資源管理、花粉一粒

## 1. 研究開始当初の背景

東南アジアの低地フタバガキ林では、「一斉開花」と呼ばれる特徴的な集団開花現象を通して、森林の次世代を担う種子が生産され、多様な野生生物種を育む熱帯雨林の更新が行なわれる。この一斉開花現象は2-10年に一

度の頻度で不定期に生じ、林冠を構成するフタバガキ科植物だけでなく、幅広い分類群にわたる多くの植物種が、短い期間に同調して開花・結実を行なう。

このような多様な植物種による集団開花現象は、種子の落下時期を同調させることに

よって、種子の生存率（食べ残される割合）を高める効果を持つため、多くの野生生物種が生息する熱帯雨林においては、個々の植物種が毎年一定量の開花・結実を行なうよりも、多くの種子や実生を残すことができる適応的な戦略であると考えられている (Janzen 1974)。

一方、一斉開花時には2-3ヶ月間の限られた時期に多様な植物種が大量の花をつけるため、個々の植物種が送粉者の奪い合いを避けて結実に至るには、膨大な量の送粉者が必要となる。しかしながら、不定期に生じる開花は、数年にわたる非一斉開花期の餌資源の減少によって、種子食者だけでなく、花蜜や花弁などの花資源を報酬として花粉の運搬を担う送粉者も減少させるため、どのようなシステムによって一斉開花時に生じうる送粉者不足を補い、種子の大量生産を行なっているのか？といった問題は、熱帯雨林における長い間未解決のままの大きな疑問の一つとなっている。

これまでこの疑問の解明に関しては、フタバガキ科サラノキ属 *Mutica* 節植物 (*Shorea* section *Mutica*) を中心に研究が行なわれ、一斉開花時に生じうる送粉者不足を補う送粉システムとして、アザミウマ送粉仮説 (Appanah & Chan 1981: 高い繁殖能力と一斉開花時の餌 (花) 資源の増加によって個体数を急激に増加させることで不定期に生じる一斉開花に対応) や食性転換仮説 (Sakai *et al.* 1999: 葉食性の昆虫が一斉開花時に花弁・花粉食に転換) など興味深い仮説が提唱されている。

これら2つの仮説は訪花昆虫種の訪花頻度や花粉塊を壊す能力に基づくものであるが、森林の更新に寄与する種子の生産に貢献した送粉者とは必ずしも一致しないという問題点を含む。なぜなら多くの植物種は自家不和合性 (同株内の交配では受粉・結実できない現象) や近交弱勢 (近親間の交配でできた子孫の生存率が低下する現象) の影響を受けるため、繁殖成功率 (森林の更新に関わる健全な種子の生産) は訪花昆虫によって運搬される花粉の遺伝的な組成に強く影響を受けるからである。虫媒植物にはしばしば複数の昆虫種が訪れるが、分散能力や訪花パターンは訪花昆虫種ごとに異なるため、森林の更新に寄与する種子の生産に貢献した送粉者を特定するためには体表付着花粉の遺伝的組成を考慮した個々の訪花昆虫種の送粉貢献度の評価が必要不可欠となる。実際、前述のアザミウマの移動は風に任せられたものであり、個々の植物種が極めて低頻度で存在する熱帯雨林において他家受粉による種子生産に貢献できているのかは疑問である。

## 2. 研究の目的

東南アジア熱帯雨林の主要な林冠構成樹種であり、かつ代表的な有用樹種であるフタバガキ科サラノキ属植物 *Shorea acuminata* を対象に、従来行なわれてきた訪花昆虫種の訪花パターン (訪花頻度や訪花時期) の解析に加え、新たに開発した花粉1粒の直接遺伝解析により、訪花昆虫に付着した花粉1粒ごとの遺伝的組成の特定を行なう。そして、個々の訪花昆虫について、付着花粉粒の自家花粉 (昆虫を採集した樹木個体に由来の花粉) の割合や遺伝的多様性などの送粉貢献度を評価することで、

(1) どのような昆虫が一斉開花時に種子生産や森林の更新に寄与する送粉を行なっているのか？

(2) これらの昆虫はどのように一斉開花時の急激な開花量の増加に対応し、限なく送粉を行なっているのか？

といった疑問を明らかにし、一斉開花時に生じうる送粉者不足を補う送粉システムの解明を行う。

## 3. 研究の方法

2005年3月から6月にかけて東南アジア全域で生じた一斉開花現象を対象に、マレーシア国ネグリスンピラン州のパソ森林保護区で採集したフタバガキ科サラノキ属 *Mutica* 節植物 *S. acuminata* の訪花昆虫について、その同定を行ない、採集時期 (開花前、初期、中期、後期および結実期) および採取時間 (6:00、12:00、18:00、24:00) と各訪花昆虫種の訪花頻度との対応関係を把握した。

また、訪花昆虫に付着した花粉を採集し、1粒ごとにマイクロサテライト遺伝マーカーを用いて遺伝解析を行ない、それらの遺伝的な組成を把握した。なお、マイクロサテライト遺伝マーカーは、サラノキ属植物を対象に開発されたもののうち、*S. acuminata* で汎用性の高い8座を使用した。

花粉親候補となる成木についても同様に遺伝子型判別を行ない、各訪花昆虫に付着した花粉1粒ごとの由来 (自家花粉もしくは他家花粉) を判別した後、各訪花昆虫の体表付着花粉における自家花粉率および遺伝的多様性を明らかにした。

さらに、各訪花昆虫種が生存率の高い成熟種子の生産にどの程度の貢献ができたのかを把握するため、訪花昆虫を採集した樹木から種子を採集し、その遺伝的多様性を把握した。その後、各訪花昆虫種の体表付着花粉における遺伝的多様性と比較することで、各

訪花昆虫種の他殖種子生産への貢献度を明らかにした。

最終的に、従来の訪花パターンの解析に加え、体表付着花粉の遺伝解析を用いて訪花昆虫種ごとの送粉貢献度を明らかにすることで、熱帯雨林の一斉開花時に生じる送粉者不足が、どのようなシステムによって回避され、大量結実に至っているのかについて議論を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) アザミウマ送粉仮説の検証

これまで、高い繁殖能力を活かし、餌資源（花卉や花粉）の増加に対応して急速に個体数を増加できるアザミウマは、一斉開花時に生じる送粉者不足を補う理想的な送粉者であると考えられてきた。一方で、アザミウマの移動は風に任せたものであるため、個々の植物種が極めて低頻度で存在する熱帯雨林において他家受粉による種子生産に貢献できているのかは大きな疑問となっていた。

本研究において、林冠観測用 50m タワーを用いて訪花昆虫種の採集を行なった結果、①開花期間中に採取された訪花昆虫種の約 75% がアザミウマであること（写真 1）、②アザミウマの個体数は開花量の増加に応じて急激に増加すること（図 1A）、③アザミウマの訪花は *S. acuminata* の開花が始まる夕方から夜に集中し、花卉が落下する朝から昼にかけて減少すること（図 1B）、などが明らかとなった。こうした *S. acuminata* の開花フェノロジーに対応したアザミウマの高頻度な訪花は *S. acuminata* 花粉との接触機会の増加をもたらすものであり、一斉開花時に生じる送粉者不足を補う送粉システムとしてのアザミウマ送粉仮説を支持するものであった。



写真1 *Shorea acuminata* の花卉で確認されたアザミウマ

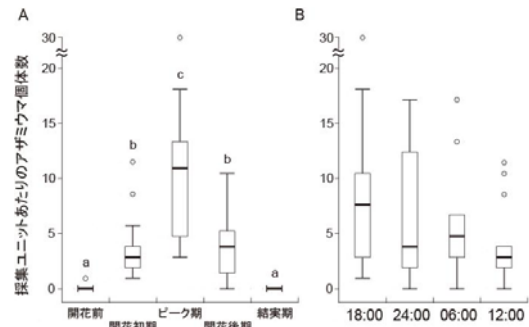


図1 アザミウマの訪花パターン。A: 季節変化、B: 日変化

しかしながら、採取したアザミウマのうち、44 個体の体表に付着した花粉 398 粒について、マイクロサテライト遺伝子座 8 座を用いて解析を行った結果、①約 9 割の花粉がアザミウマを採集した樹木個体に由来すること、②アザミウマの体表に付着した花粉の自家花粉割合は開花期間を通じて高いこと（図 2A）、③アザミウマの体表に付着した花粉の遺伝的多様性は開花期間を通じて低いこと（図 2B）、などが明らかとなった。一方、種子についても同様に遺伝子型を特定した結果、アザミウマの体表付着花粉に比べ、種子の遺伝的多様性は有意に高い結果となった。つまり、アザミウマは *S. acuminata* の開花フェノロジーに対応した高頻度の訪花により、種子の大量生産には貢献するものの、その大部分は発芽率の低い自殖種子であり、熱帯雨林の次世代を担う種子の生産には直接的に寄与していないことが明らかとなった。

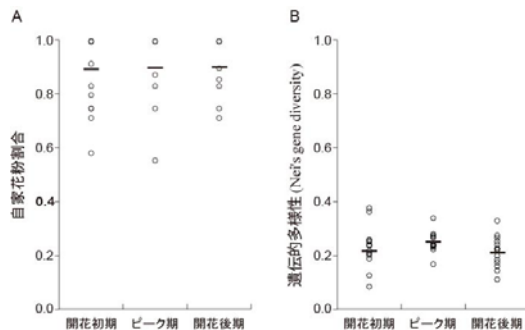


図2 アザミウマ体表付着花粉の自家花粉率 (A) と遺伝的多様性 (B)

##### (2) 一斉開花における送粉システムの解明

アザミウマの体表付着花粉における高い自家花粉割合や、種子に比べ有意に低い遺伝的多様性は、アザミウマ以外の送粉者の存在を示唆するものであった。そこでアザミウマ以外の訪花昆虫種についても体表付着花粉の遺伝解析を行った結果、①アザミウマに次いで訪花頻度の高いカメムシ類の体表付着花粉において高い遺伝的多様性が確認できること、②これらカメムシ類の大部分が肉食性の昆虫種であること、③カメムシ類の訪花は、一斉開花における花資源の増加に対応し

たものではなく、アザミウマの増加に対応する捕食活動に起因したものであること、などが明らかとなった。

つまり、これまで主要な送粉者であると考えられてきたアザミウマは、直接的には発芽率の低い自殖種子の生産にしか寄与していないが、餌資源としてより分散能力の高いカメムシを開花個体に誘引することで、間接的に他家受粉に貢献していることが明らかとなった。以上から、東南アジアの熱帯雨林では、一斉開花を通じた、アザミウマを中心とした食物連鎖網に基盤をなす他殖種子の生産によって森林の更新が行われていることが明らかとなった。

#### 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1件)

1. Kondo, T., S. Nishimura, Y. Naito, Y. Tsumura, T. Okuda, K. K. S. Ng, S. L. Lee, N. Muhammad, N. Nakagoshi & Y. Isagi. 2011. Can tiny thrips provide sufficient pollination service during a general flowering period in tropical rainforest? *In*: Y. Isagi & Y. Suyama eds. Single-Pollen Genotyping. Springer, Tokyo. pp 63-82. ISBN978-4-431-53900-1. 【査読あり】

[学会発表] (計2件)

1. Kondo, T. Pollination system of Dipterocarpaceae and the consequences of climate change. *In* SATREPS Workshop (organized by Ministry of Nature Resources & Environment, Malaysia, Forest Research Institute of Malaysia, and Japan International Research Center for Agricultural Sciences). Kepong, Malaysia. 1<sup>st</sup> March 2012. 【招待講演】
2. Kondo, T. Pollination system of *Shorea acuminata* inferred by single-pollen genotyping: Can tiny thrips provide sufficient pollination service during a general flowering period? *In* Ecology and Genetics of Dipterocarps –Its role in sustainable forest management– (organized by Ministry of Nature Resources & Environment, Malaysia, Forest Research Institute of Malaysia, and Japan International Research Center for Agricultural Sciences), Seminar of FRIM/JIRCAS joint Research Project. Genting highland, Malaysia. 25<sup>th</sup> January 2011. 【招待講演】

[その他]

ホームページ等：なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

近藤 俊明 (KONDO TOSHIAKI)

広島大学・大学院国際協力研究科・助教

研究者番号：40391106

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし