

令和 2 年 6 月 7 日現在

機関番号：12604

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07559

研究課題名（和文）花形質の地理的クラインをもたらす繁殖干渉メカニズムの解明

研究課題名（英文）Reproductive interference in geographic cline of corolla tube length in *Isodon umbrosus*

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） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：イヌヤマハッカ（シソ科）にみられる花筒長の地理的なクラインが、同属別種との繁殖干渉が要因であるかを検討した。その結果、異種花粉が結実を妨げるという繁殖干渉が検出された。異種との花筒長差が小さく、同所的に生育するような集団では、異種花粉の受精が妨げられ同種交配が優先している可能性が示唆され、自種花粉選好性の形質置換が生じていると考えられた。また、地理的なクラインは遺伝的に分化した2つのグループが2次的に接触したことによってもたらされたことが示唆され、繁殖干渉の影響に加え、歴史的要因の重要性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物形質に地理的なクラインがみられることはよく知られており、気候適応の例は多いが、種間相互作用が要因となっている例は極めて少ない。結果、種間相互作用と遺伝的に分化したグループの2次的接触によって地理的クラインがもたらされた。異種との共存メカニズムが明らかになり、生物多様性の理解に貢献するものである。

研究成果の概要（英文）：We investigated whether reproductive interference between different species resulted in the geographic cline of corolla length of *Isodon umbrosus*. *Isodon trichocarpus* with very short corolla coexists with *I. umbrosus* with short corolla, and they shared a common bumblebee pollinator, *Bombus honshuensis*. In sympatric site, fertilization of *I. umbrosus* was reduced by pollen deposition from *I. trichocarpus*, suggesting reproductive interference between species. Precedence of conspecific pollen was detected in sympatric populations in *I. trichocarpus*, suggesting character displacement in pollen-pistil interactions. In addition, we found two genetic groups in *I. umbrosus*, suggesting that a historical process, the secondary contact between two diverged populations, caused geographic cline of corolla length.

研究分野：送粉進化生態学

キーワード：地理的クライン 繁殖干渉 形質置換

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

クラインは、連続した生育地において量的形質や対立遺伝子頻度が滑らかな地理的变化を示し、測定可能な変異の勾配として観察される。これまで数多くの生物で、クラインを用いて形質の適応進化の因果やプロセスが明らかにされてきた。これまでの実証研究では、表現型の地理的クラインは気候適応によるという例が多く、種間相互作用が要因となっている例はきわめて少ない。また近年、近縁種間の繁殖干渉が、表現型の地理的変異を生み出すことが分かっている。繁殖干渉とは、繁殖プロセスにおける種間相互作用が繁殖成功を低下させる現象である。繁殖干渉の下では、それを回避しうる形質が有利となるため、繁殖干渉の集団間変異が、形質の地理的変異をもたらすと予想される。

シソ科ヤマハッカ属 (*Isodon*) は、花筒長 (筒状の花の長さ) に地理的クラインが見られる (4-12 mm)。ヤマハッカ属内の同所的に生育する種間で、繁殖干渉を回避するような選択圧が働いたことで、花筒長の地理的なクラインが生じた可能性が考えられた。

### 2. 研究の目的

シソ科ヤマハッカ属 (*Isodon*) のタカクマヒキオコシ (西日本に分布) とイヌヤマハッカ (東日本) では、花筒長に地理的クラインが見られる (4-12 mm)。これまで、主な送粉者である 2 種のマルハナバチ (短舌のミヤママルハナバチと長舌のトラマルハナバチ) が標高によって棲み分けており、地域ごとに送粉効果が異なることで、地理的クラインがもたらされていると考えられてきた。先行研究において、東日本のイヌヤマハッカ (*Isodon umbrosus*) では、近縁種セキヤノアキチョウジ (*Isodon effusus*, 14mm 以上の長い花筒を持つ) と同所的に生育する場合、異所的な場合と比較して種子生産が低いことから、繁殖干渉が起こっていることが示唆されている。特に、送粉者種を共有していた集団では、近縁種との開花フェノロジーが異なっており、繁殖干渉を回避していることが示唆された。イヌヤマハッカの急激な地理的クラインが見られる地域は、同属のセキヤノアキチョウジとクロバナヒキオコシ (*Isodon trichocarpus*, 5 mm 以下の短い花筒を持つ) の分布の境界になっており、同所的に分布する近縁種間との繁殖干渉が、花形質の地理的クラインをもたらしている可能性を示唆している。そこで本研究は、集団レベルで近縁種間との繁殖干渉の程度を測定し、花形質の地理的クラインが生じる可能性を検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

イヌヤマハッカが分布する長野県奥志賀地域の 7 集団にて、イヌヤマハッカとクロバナヒキオコシを対象に調査を行った (図 1)。

#### (1) 遺伝的解析と花筒長変異

1 集団 5~25 個体の葉をサンプリングし、シリカゲルで乾燥し保存した。7 遺伝子座のマイクロサテライトマーカーを使用し、遺伝子型を決定した。遺伝的な集団構造を推定するため、STRUCTURE var.2.3.4 を使用し、最適な分集団数  $K$  を推定した。さらに STRUCTURE Harvester v0.694 を用いて、 $K$  を求めた。最適な  $K$  は 2 となり、2 つのクラスターの比率 ( $Q$ ) と花筒長の対応を検討した。

花筒の長さは、各集団 15~30 個体から 1~3 個の花を採集し、ノギスで上唇弁から花冠基部までを測定した。

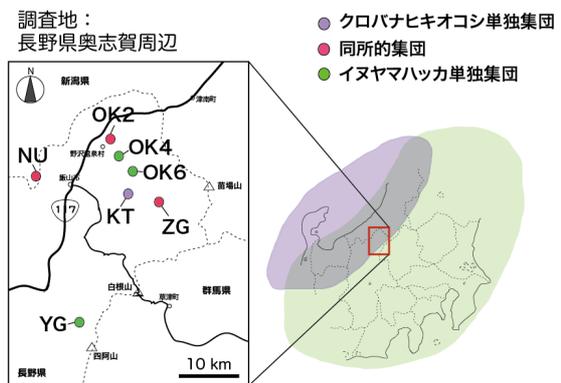
#### (2) 開花フェノロジーと送粉者の訪花頻度

各集団において、1 x 3 m のコドラートを設置し、2~7 日間隔で開花数を記録した。同じコドラートにて、訪花昆虫種、訪花花数を 15~30 分観察し、記録した。訪花頻度は、訪花花数 / 花数 / 時間を算出した。

#### (3) 繁殖干渉の程度：異種交配と混合花粉交配による種子生産

イヌヤマハッカとクロバナヒキオコシの単独集団を 1 つずつ、同所的な 1 集団で、受粉実験を行った。蕾に袋をかけ、除雄後、柱頭に花粉を添加し、再び袋をかけて 2~3 週間後に種子を回収し数えた。

処理は、同種交配、異種交配、混合花粉 (同種の花粉を添加したあと、異種の花粉を添加した) 交配を行った。結果率は果実数 / 処理した花数、結実率は種子数 / 胚珠数 4 とした。結果率と結実率について、一般化線形混合モデル (GLMM) を用いて、処理間の比較をした。



#### 4. 研究成果

##### (1) 遺伝的解析と花筒長変異

イヌヤマハッカの遺伝的な集団は2つ推定され、花筒の長さに対応が見られ、長い花筒の系統と短い系統があることが分かった(図1)。よって、イヌヤマハッカ群の2系統が奥志賀地域で2次的に接触している可能性が示唆された。

##### (2) 開花フェノロジーと送粉者の訪花頻度

同所的集団3集団において2種の開花フェノロジーはほとんど同じだった。

クロバナヒキオコシの単独集団(KT)では、スズメバチ類とトラマルハナバチが訪花していた。イヌヤマハッカの長い花筒の系統の単独集団(OK6)では、マルハナバチ類の頻度が高く、スズメバチやコハナバチもわずかに観察された。イヌヤマハッカの短い花筒の系統の単独集団(YG)では、マルハナバチが主に訪花していた。

同所的集団の中で、クロバナヒキオコシと長い系統のイヌヤマハッカが同所的にいる集団(NU, OK2)では、イヌヤマハッカにはトラマルハナバチが訪花し、クロバナヒキオコシにはスズメバチ類が訪花しており、送粉昆虫は異なっていた(図3)。よって、花筒長差が大きく、送粉昆虫種が異なるので、クロバナヒキオコシとイヌヤマハッカは交雑を避けられると考えられる。一方、クロバナヒキオコシと短い系統のイヌヤマハッカが同所的にいる集団(ZG)では、2種ともにミヤママルハナバチが訪花していたことから(図4)、2種間に交雑の可能性があると考えられる。

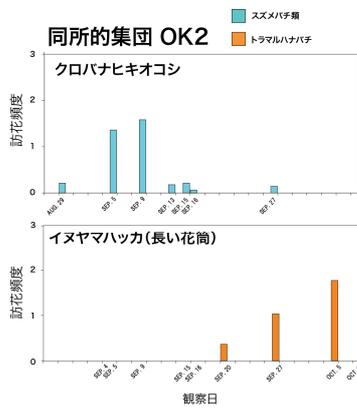


図3 同所的集団 OK2 の訪花頻度

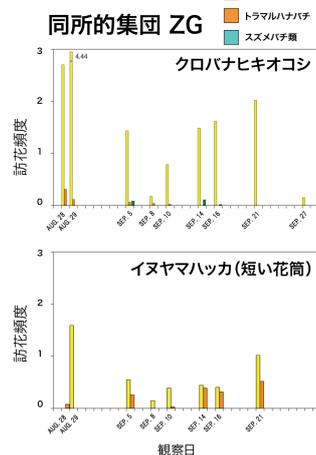


図4 同所的集団 ZG の訪花頻度

##### (3) 繁殖干渉の程度：異種交配と混合花粉交配による種子生産

同所的集団：イヌヤマハッカとクロバナヒキオコシともに、異種交配では同種交配より種子生産が低くなったが、混合花粉交配では同種交配と同程度の種子が生産されたことから、異種交配の受精が妨げられ、同種交配が優先していると考えられる(図5)。

単独集団：イヌヤマハッカの異種交配と混合花粉交配による種子生産を同種交配と比較したところ、異種交配の種子生産は低くなったが、混合花粉交配の種子生産は同程度だった。よって、異種交配は妨げられ、同種交配が優先していると考えられる。一方、クロバナヒキオコシの交配実験の結果、異種交配も混合花粉交配も同種交配と同程度の種子が生産された。よって、クロバナヒキオコシでは、雑種種子が多く生産されたと考えられる。

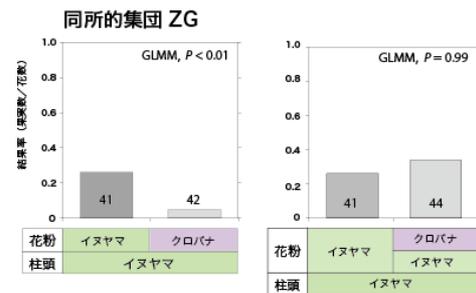


図5 受粉実験によるイヌヤマハッカの結果率

以上の結果から、異種花粉が結実を妨げるという繁殖干渉が検出された。異種との花筒長差が小さく、同所的に生育するような集団では、異種花粉の受精が妨げられ同種交配が優先している可能性が示唆され、自種花粉選好性の形質置換が生じていると考えられた。また、地理的なラインは遺伝的に分化した2つのグループが2次的に接触したことによってもたらされたことが示唆され、繁殖干渉の影響に加え、歴史的要因の重要性が示唆された。

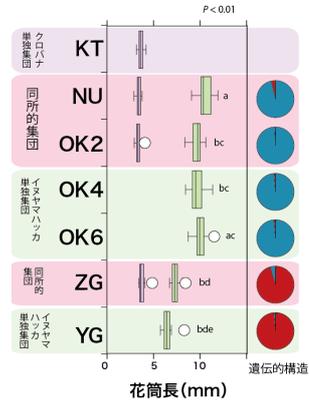


図2 イヌヤマハッカとクロバナヒキオコシの花筒長と遺伝的構造

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fukatsu Misaki, Horie Sachiko, Maki Masayuki, Dohzono Ikumi	4. 巻 305
2. 論文標題 Hybridization, coexistence, and possible reproductive interference between native <i>Oxalis corniculata</i> and alien <i>O. dillenii</i> in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Systematics and Evolution	6. 最初と最後の頁 127 ~ 137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00606-018-1557-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ogishima, M., Horie, S., Kimura, M., Yamashiro, T., Dohzono, I., Kawaguchi, L., Nagano, A. J. and Maki, M.	4. 巻 33
2. 論文標題 Frequent chloroplast capture among <i>Isodon</i> (Lamiaceae) species in Japan revealed by phylogenies based on variation in chloroplast and nuclear DNA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Species Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1442-1984.12239	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 星野美紀, 鷲尾翼, 中村誠, 堂園いくみ
2. 発表標題 カタバミ長花柱型の繁殖特性と集団間比較
3. 学会等名 第50回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 堂園いくみ・荻嶋美帆・堀江佐知子・山城考・山田孝幸・牧雅之
2. 発表標題 同所的に生育する近縁植物2種の生殖隔離と繁殖干渉
3. 学会等名 日本生態学会第66回
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 堂園いくみ, 深津美佐紀, 加藤満里子, 堀江佐知子, 牧雅之
2. 発表標題 同所的に生育する在来種カタバミ・外来種・雑種間の繁殖干渉
3. 学会等名 第51回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中田大暁, 堂園いくみ
2. 発表標題 同所的に生育する近縁植物2種間の生殖隔離と集団間の種子生産比較
3. 学会等名 第49回種生物学シンポジウム
4. 発表年 2017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
研究 分担者	牧 雅之  (Maki Masayuki)  (60263985)	東北大学・学術資源研究公開センター・教授   (11301)	
連携 研究者	山田 孝幸  (Yamada Takayuki)  (60768886)	独立行政法人国立科学博物館・分子生物多様性研究資料センター・特定非常勤研究員   (82617)	