

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19770009
 研究課題名（和文）ポリネーション競争を反映した花粉流動と植物の繁殖様式の進化
 研究課題名（英文）Plant mating success and gene flow in alpine ecosystems: effects of selfing, hybridization and pollinator behaviors

研究代表者
 亀山 慶晃（KAMEYAMA YOSHIKI）
 東京農業大学・地域環境科学部・助教
 研究者番号：10447047

研究成果の概要：高山生態系では雪解け時期を反映した連続的な開花現象が認められ、傾度に沿って花粉媒介者や近縁他種との関係が変化する。北海道大雪山系におけるツガザクラ属植物では、雪解け傾度に沿って雑種第一代が優占する広大な交雑帯が形成されており、雑種と親種の間で花粉媒介者を巡る競争が生じていた。親種の受粉成功は開花時期や年によって大きく変動し、繁殖成功（他殖率）に多大な影響を及ぼしていた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	0	1,800,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	480,000	3,880,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生態・環境

キーワード：高山生態系、雪解け傾度、交雑帯、花粉媒介者、受粉成功、繁殖成功、他殖率、ツガザクラ属植物

1. 研究開始当初の背景

共通のポリネータ（花粉媒介者）を利用する植物が同所的に生育し、その開花時期が重なり合うとき、ポリネータを巡る競争（ポリネーション競争）によって同種花粉の減少と異種花粉による干渉が生じる。ポリネーション競争は植物に対する強い選択圧として働き、競争で不利となった種では、より多くのポリネータに訪花してもらうために開花フェノロジーをずらすか、同種花粉の制限を補うために自家和合性を進化させたり、異種からの頻繁な花粉フローに対して交配障壁を強化す

ることが予想される。繁殖保証としての自家和合性の進化(reproductive assurance)や、二次的接触による交配障壁の強化(reinforcement)については理論的研究が進んでおり、いくつかの実証研究も存在する。しかし、同所的に生育する種間のポリネーション競争とそれを反映した花粉流動に着目し、植物における繁殖様式の進化過程を説明した例は無い。

高山植物の開花フェノロジーは雪解けの時期によって規定されており、開花時期をずらすことによるポリネーション競争の回避

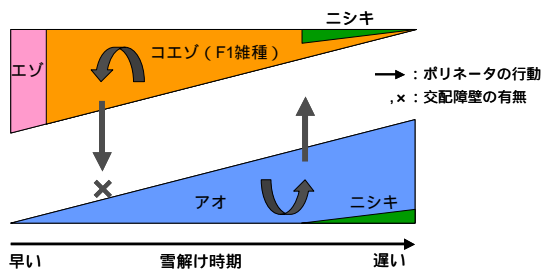
は難しい(Kudo 1991, 1996)。そのため、ポリネーション競争は高山植物の繁殖様式に対して強い選択圧として働き、その強さは雪解け時期に沿って変化する。北海道大雪山系のツガザクラ属植物ではこれらのプロセスについて長年研究がおこなわれ、膨大なデータが蓄積している(例えば、Kasagi 2002; Kasagi & Kudo 2003, 2005)。その概要は以下の通りである(下図参照)。

(1) ツガザクラ属植物の分布様式

大雪山系に分布する“種”は、**エゾツガザクラ**(エゾ)と**アオノツガザクラ**(アオ)エゾは雪解けの早い尾根筋に限られた場所、アオは雪田を中心に広く分布両者の中間には雑種第一代の**コエゾツガザクラ**(コエゾ)が優占コエゾは稔性を持つが、遺伝的な強い選択圧(雑種崩壊)のため、雑種後代の定着はほぼ不可能雪田ではごく稀に、コエゾとアオの戻し交配種(**ニシキツガザクラ**)が生育

(2) ポリネーション競争(雪解けの早い場所について。遅い場所ではパターンが逆転)開花数や蜜生産量で**コエゾ**が**アオ**を上回る

マルハナバチはコエゾを選好訪花し、アオは花粉制限を受ける種間訪花はコエゾからアオへの移動が卓越し、逆は少ない**アオ**は**コエゾ**花粉を拒否し、自家和合性を持つ



2. 研究の目的

上記の研究成果に基づき、本研究の課題を以下の通り設定した。

(1) ポリネーション競争と花粉流動

北海道大雪山系では、雪解け傾度に沿ってアオノツガザクラ(アオ)とその雑種第一代であるコエゾツガザクラ(コエゾ)の間でポリネーション競争が起きており、雪解けの早い場所ではコエゾ、遅い場所ではアオが有利となる。このような差異を反映し、ポリネータは雪解けの早い場所でコエゾ、遅い場所ではアオを選好訪花するが(Kasagi & Kudo

2003)、ポリネータの行動と実際の花粉流動とは大きく異なることが知られている。本研究では、マイクロサテライト遺伝マーカーを用いた父性分析によって、雪解け傾度に沿った種間の花粉流動の変化を明らかにする。

(2) コエゾ花粉に対する交配障壁

コエゾ花粉に対するアオの交配障壁の強化は、コエゾからの頻繁な花粉フローと、それに対する自然選択の結果として説明できる(Kasagi & Kudo 2005)。しかし、これまで明らかになっている「交配障壁の強さ」はコエゾ花粉の強制受粉によって得られた種子数から判定したものであり、ポリネータの行動を反映した受粉前隔離の強さや、様々な組成の花粉が混ざり合った状態での花粉管競争(受粉後・接合前隔離)の有無は明らかになっていない。受粉前の隔離機構については(1)で得られた花粉流動の結果から推察できる。本研究ではさらに、様々な花粉を混ぜ合わせ、得られた種子の遺伝分析をおこなうことによって花粉管競争(受粉後・接合前隔離)の有無を検証し、交配障壁の生じている段階とその強さを明らかにする。

(3) アオの自家和合性

アオの自家和合性は、コエゾとのポリネーション競争による同種花粉の制限と、それに対する繁殖保証として説明できる(Kasagi 2002)。しかし、潜在的な自家和合性が自殖種子の形成にどの程度寄与しており、形成された種子がどれくらいの確率で次世代に貢献しているのかは全く分かっていない。本研究では、野外集団における自殖率と自殖種子に対する近交弱勢、自殖によって減少する他殖可能な胚珠の数を推定し、自家和合性が繁殖保証としての役割を果たしているのかどうかを検証する。

3. 研究の方法

調査は北海道大雪山系のヒサゴ沼及び五色岳周辺でおこなった。各調査地において開花時期が異なる集団を1つずつ選定し、それぞれ早期開花集団(6月下旬開花)、中期開花集団(7月上旬開花)、後期開花集団(7月下旬開花)とした。

(1) 花粉流動の定量化

自然条件下でのアオの受粉成功を明らかにするため、各集団あたり24の花序を任意に選び、開花直後に一花を除雄、もう一花は無処理としてマークし、結実率の算出と開発したマイクロサテライト遺伝マーカー(Kameyama et al. 2006)による父性分析をおこなった。父性分析には果実当たり2つの種子(計48種子)を用い、集団の対立遺伝

子頻度と各々の母樹、種子の遺伝子型から花粉親組成（自家、他家、コエゾ）を最尤推定した。また、同花受粉率を $1 - (\text{除雄によって得られた結実率} / \text{無処理の結実率})$ と定義し、同化受粉率を評価した。

(2) 交配実験

交配障壁が生じている段階と強さ、自家和合性の程度、花粉管競争の有無を明らかにするため、ヒサゴ沼の3集団（早期開花、中期開花、後期開花）で人為的な交配実験をおこなった。用いた花粉親は、アオの他家花粉のみ(O)、アオの自家花粉のみ(S)、コエゾ花粉のみ(H)に加えて、他家と自家(OS)、他家とコエゾ(OH)、他家と自家とコエゾ(OSH)の混合花粉、計6通りである。それぞれ10個体を処理し、結実率を算出した。混合花粉については得られた種子の遺伝分析(OSとOHが個体当たり8種子、OSHは12種子)をおこない、花粉親を特定した。

(3) 近交係数の算出

自家受粉によって生産された種子が次世代に貢献しているのかどうかを明らかにするため、マイクロサテライト遺伝マーカーを用いて Wright の近交係数(F) (Weir and Cockerham 1984) を算出した。計算には GENEPOP version 3.4 on the Web (Raymond and Rousset 1995) を使用した。

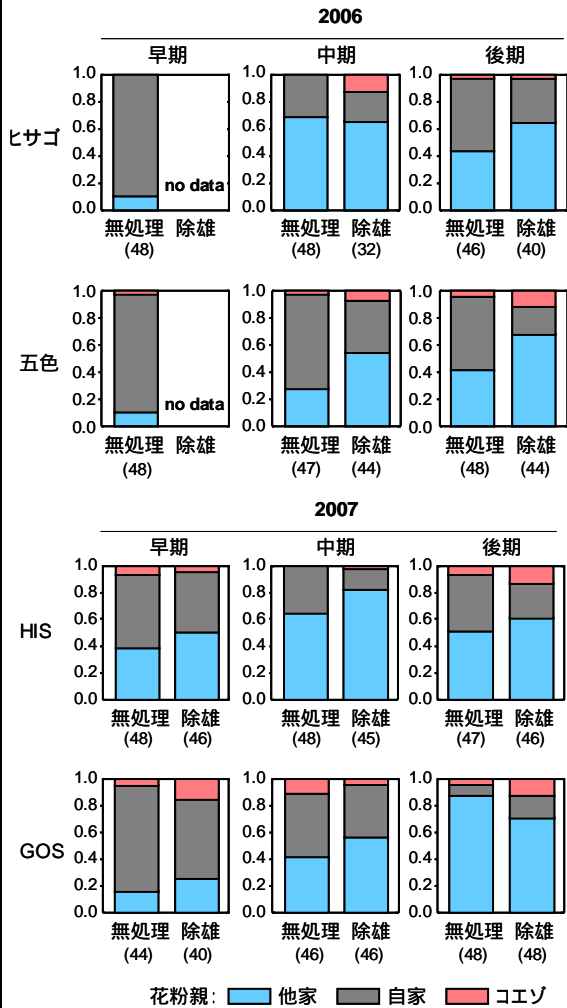
4. 研究成果

(1) 花粉流動

各年、各集団におけるアオの結実率を以下にまとめた。結実率は早期開花集団で低く、除雄によって更に低下した。これは、早期開花集団では花粉媒介者の訪花が不十分であり、同花受粉が卓越していることを示している。一方、中期開花集団、後期開花集団の結実率は高く、除雄の効果も認められなかった。これらの集団では花粉媒介者が十分に訪花し、量的な花粉制限は起きていないことが明らかとなった。

集団	開花時期	2006		
		無処理	除雄	同花受粉率
ヒサゴ	早期	0.18 ± 0.04 (24)	0.01 ± 0.01 (11)	0.95 ± 0.04 (11)
	中期	0.68 ± 0.03 (24)	0.58 ± 0.05 (18)	0.20 ± 0.07 (18)
	後期	0.70 ± 0.04 (23)	0.58 ± 0.05 (20)	0.12 ± 0.08 (19)
五色	早期	0.25 ± 0.03 (24)	no data	no data
	中期	0.60 ± 0.04 (24)	0.50 ± 0.06 (22)	0.20 ± 0.06 (22)
	後期	0.67 ± 0.04 (24)	0.71 ± 0.04 (21)	-0.15 ± 0.15 (21)
集団	Snowmelt	2007		
		無処理	除雄	同花受粉率
ヒサゴ	早期	0.62 ± 0.04 (24)	0.37 ± 0.05 (24)	0.35 ± 0.09 (24)
	中期	0.77 ± 0.03 (24)	0.70 ± 0.04 (23)	0.07 ± 0.05 (23)
	後期	0.59 ± 0.05 (24)	0.47 ± 0.06 (24)	-0.04 ± 0.23 (24)
五色	早期	0.40 ± 0.05 (24)	0.19 ± 0.04 (24)	0.26 ± 0.25 (22)
	中期	0.65 ± 0.05 (24)	0.66 ± 0.04 (23)	0.05 ± 0.03 (22)
	後期	0.83 ± 0.02 (24)	0.76 ± 0.03 (24)	0.09 ± 0.03 (24)

生産された種子の父性分析をおこない、花粉親を特定した結果を下図に示す。早期開花集団では高い自殖率を示しており、結実率の結果から示唆された量的花粉制限の存在が支持された。一方、結実率の高かった中期開花集団、後期開花集団においても自殖率は10-70%に達しており、花粉媒介者を介して多量の自家花粉が供給されていることが明らかとなった。いずれの集団においてもコエゾ花粉によって生産された種子は少なく、5-10%程度であった。

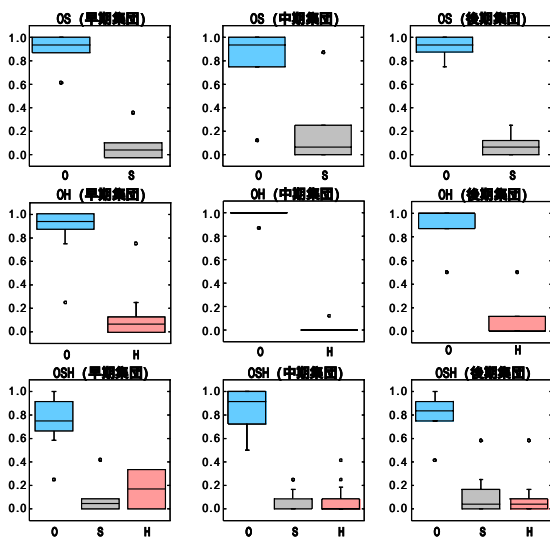


(2) 交配実験

従来の報告では、アオの繁殖様式は雪解け傾度（開花時期）に沿って変化するとされていた (Kasagi 2002; Kasagi & Kudo 2005)。しかし、我々の追跡調査の結果、開花時期による潜在的な繁殖様式の差異は認められなかった。まず、自家花粉(S)、コエゾ花粉(H)を付着させた場合の結実率は、他家花粉(O)の半分程度であった。また、異なるタイプの花粉を充分量、同時に付着させた場合(OS, OH, OSH) 結実率は他家花粉のみの場合と同等であった。

花粉親	早期	中期	後期
他家花粉(O)	0.54 ± 0.05 (10)	0.85 ± 0.05 (6)	0.67 ± 0.06 (10)
自家花粉(S)	0.22 ± 0.06 (10)	0.42 ± 0.08 (9)	0.33 ± 0.06 (10)
コエソ花粉(H)	0.32 ± 0.07 (10)	0.31 ± 0.08 (6)	0.48 ± 0.06 (10)
OS	0.60 ± 0.06 (10)	0.71 ± 0.05 (10)	0.83 ± 0.01 (10)
OH	0.61 ± 0.06 (10)	0.74 ± 0.06 (10)	0.72 ± 0.05 (10)
OSH	0.61 ± 0.06 (10)	0.65 ± 0.07 (10)	0.82 ± 0.05 (10)

更に、混合花粉(OS, OH, OSH)によって生産された種子の遺伝分析をおこなった結果、いずれの処理においても、大部分が他家花粉に由来していた。アオノツガザクラには花粉間競争による選択的な他殖メカニズムが存在しており、異なるタイプの花粉が充分量、同時に付着した場合には、生産される種子の量、質ともに、他家花粉のみの場合と同等であることが示された。



(3) 近交係数

各集団の近交係数を算出した結果、全ての集団でゼロからの有意差は認められなかった。この結果から、自家受粉によって生産された種子は次世代に貢献していないことが明らかになった。

(4) まとめ

アオの潜在的な繁殖様式については、従来の報告とは大きく異なり、雪解け傾度(開花時期)を反映した自家不和合性や交配障壁の強さに差異は認められなかった。開花時期が遅い集団では資源的な制約が強く働くため、例えば自家花粉由来の種子が選択的に中絶された場合、見かけ上の自家不和合性が生じ得る。従来の研究ではこのような環境による差異を検出していた可能性が高い。また、生産された自殖種子は次世代に貢献することはなく、アオの自家不和合性に進化的な意義は無いものと結論できる。

アオの他殖種子数(即ち繁殖成功度)に関しては、いくつかの興味深い事実が明らかになった。まず、アオには選択的な他殖メカニズムが存在しており、十分量の花粉が同時に付着した場合、生産される種子の大部分は他殖となることが示された。しかし、野外自然集団の他殖率は様々な要因によって大きく変動していた。特に早期開花集団の結実率、自殖率は年変動が大きく、気象条件の影響を強く受けているものと推察された。また、花粉媒介者が十分に訪花しないことから、少量の同花受粉による高い自殖率と結実率の低下が認められた。中期開花集団と後期開花集団では花粉媒介者が十分に訪花し、結実率も上昇した。しかし、これらの集団では同一クローンの他の花に由来する自家花粉(隣花受粉)が卓越しており、早期開花集団とは別のプロセスで繁殖成功度の低下がもたらされていた。

本研究では雪解け時期という景観レベルの構造に着目し、開花時期と花粉流動、潜在的な自家不和合性や交配障壁の強さ、花粉媒介者の行動など、様々な要因が植物の繁殖成功(他殖率)に影響していることを明らかにした。一連の研究成果は国際的にも高く評価されており、その一部は既に国際誌や国際学会で発表されている。

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 2 件)

Kameyama Y, Kudo G. Flowering phenology influences seed production and outcrossing rate in populations of an alpine snowbed shrub, *Phyllodoce aleutica*: effects of pollinators and self-incompatibility. *Annals of Botany* (in press) (2009) (査読有り)

Kameyama Y, Kasagi T, Kudo G. A hybrid zone dominated by fertile F₁s of two alpine species, *Phyllodoce caerulea* and *Phyllodoce aleutica*, along a snowmelt gradient. *Journal of Evolutionary Biology* 21:588-597 (2008) (査読有り)

[学会発表](計 4 件)

亀山慶晃, 工藤 岳. ツガザクラ属植物における種間雑種の形成と定着. 日本生態学会大会(盛岡)2009年3月.

Kudo G, Kameyama Y, Hirao AS. Flowering phenology and pollination success:

Importance of mating system and landscape features. The Ecology and Evolution of Plant-Pollinator Interactions (Milwaukee, Wisconsin, USA) August, 2008.

亀山慶晃, 工藤 岳. 雪解け傾度を反映したアオノツガザクラの繁殖様式と集団維持. 日本生態学会(福岡)2008年3月.

工藤 岳, 亀山慶晃. 高山帯のユニークな生態系構造と高山植物群集の気候変動への応答. 日本生態学会(福岡)2008年3月.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

亀山 慶晃 (KAMEYAMA YOSHIAKI)
東京農業大学・地域環境科学部・助教
研究者番号: 10447047

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

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