

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06099

研究課題名(和文) 水田に生育する在来植物の消失要因 - 繁殖干渉という視点から -

研究課題名(英文) Reproductive interference between native and alien plant species in paddy field

研究代表者

亀山 慶晃 (Kameyama, Yoshiaki)

東京農業大学・地域環境科学部・教授

研究者番号：10447047

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：水田生態系における在来植物の消失要因について、外来植物との送粉を介した相互作用という視点から研究をおこなった。かつて強害雑草とされていたモトタカサブロウは近縁な外来種であるアメリカタカサブロウの侵入に伴って激減しており、特に本州の関東以西では危機的な状況であることが明らかとなった。その背景として、異種花粉が柱頭に付着することによる種子生産数の減少(狭義の繁殖干渉)、雑種の稔性低下を介した個体群統計学的影響(広義の繁殖干渉)、遺伝子浸透による遺伝的影響(genetic swamping)が関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水田生態系を対象として、送粉を介した種間相互作用について検証したのは本研究が初めてである。これまで類似の研究がおこなわれなかったのは、水田に生育する植物の多くが自家和合性を持っており、そのような植物は干渉作用を受けにくいと考えられてきたためだろう。今回、自殖が卓越するタカサブロウ属植物でも一定程度の干渉作用が確認されたことは、送粉を介した種間相互作用と自家和合性との関係について再検討を促し、外来植物による在来植物への影響を再評価するとともに、水田生態系の保全対策に基礎的知見を与えるなど、学術的・社会的に大きな意味を持っている。

研究成果の概要(英文)：The present study revealed that about 75 years after the accidental introduction of *E. alba* into Japanese rice paddies, its geographical distribution has spread over a wide range of Japan. The invasion of *E. alba* resulted in interspecific hybridization with closely related native species, *E. thermalis*, and a large number of later-generation hybrids have been generated. In addition, artificial pollination experiments and microsatellite genotyping clarified that the deposition of heterospecific pollen grains on the stigma surface resulted in both quantitative and qualitative reduction of seed production. We considered that frequency-dependent pollination-mediated interactions, e.g., demographic and genetic swamping, seems to play an important role in the reduced dominance of *E. thermalis*.

研究分野：保全生態学

キーワード：水田生態系 外来生物 遺伝的攪乱 種間交雑 繁殖干渉 生物間相互作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水田は里地・里山の重要な構成要素であり、日本の生物多様性保全を考える上で欠かせない生態系である。水田やそれを取りまく生態系の植物相については様々な研究がなされているが、生態学的な知見は未だに不十分である。例えば近年、田面（畦畔に囲まれた水田内部）に生育する在来植物が全国的に減少し、近縁な外来植物に置き換わっている可能性が示唆されているが、その理由を資源やニッチを巡る種間競争という観点のみで説明することは難しい。

例えば、圃場整備は畦畔の種多様性を減少させ、外来草本を増加させる。これは工事によって畦畔植生が破壊されるとともに、基盤土で整形された畦畔に外来草本が侵入するためである。しかし、整備後に表土が戻される田面では、その影響は軽微であり、少なくとも在来植物の減少と外来植物の増加を同時に引き起こす理由とは考えにくい。農薬散布は水田の種多様性を激減させるが、薬剤への耐性や抵抗性は外来種よりも在来種で獲得されやすいため、在来植物のみが減少する理由にはならない。最後に、乾田での慣行栽培をおこなう限り、田面の物理化学的環境は全国的にほぼ均一であり、特定の地域や水田で在来植物が外来植物に置き換わることの説明にはならない。

生物の分布境界を決定し、異所的分布や種の排除を引き起こす要因として注目されているのが繁殖干渉である。繁殖干渉とは近縁種の花粉が付着することによる繁殖成功度の低下であり、花粉の発芽、花粉管の伸長、受精、胚珠の成熟、種子の発芽、個体の生育、雑種が形成された場合はその稔性など、あらゆる生育段階で作用する。繁殖干渉は近縁種からの送粉によって生じ、少数派ほど影響を受けやすいという頻度依存性を示す。従って、生息地の物理化学的環境が不変だったとしても、周辺の外来植物から繁殖干渉があれば、在来植物は集団を安定的に維持できない。しかし、繁殖干渉の研究例は依然として少なく、この仮説が水田生態系に適用できるかどうか不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、在来植物と外来植物の繁殖干渉に着目し、生態遺伝学的な視点から水田生態系の維持機構を明らかにすることである。圃場整備に限らず、都市化や宅地化は外来植物の侵入を招くだろう。良好な水田が保全され、田面の環境が安定的に維持されていても、周辺に外来植物が繁茂する状態では、在来植物は一方的に駆逐される可能性がある。

里地・里山の生態学的研究では、希少植物が多く分布する草地（畦畔や林縁部の裾刈地など）に焦点が当てられることが多かった。また、田面に生育する植物については、専ら駆除を目的として、種子の休眠性や発芽特性に関する研究が盛んにおこなわれてきた。田面と畦畔によって成立する水田について、繁殖干渉を介した生物間相互作用という視点で植物の分布を説明した例はない。

具体的な対象種として、キク科の一年生草本であるモトタカサブロウとアメリカタカサブロウを選定した。モトタカサブロウ（タカサブロウとも呼ぶが、属名との混乱を避けるためここではモトタカサブロウに統一する）は稲作とともに渡来した史前帰化植物もしくは在来種で、かつては日本全土に普通に生育していた。しかし、1948年に神戸でアメリカタカサブロウが確認されて以降、急速にその分布が縮小し、現在では山間の伝統的な水田を中心に生育している。モトタカサブロウとアメリカタカサブロウの間には交配親和性があり、雑種と思われる個体が各地で報告されているが、その地理的分布や頻度などの詳細は不明である。

本研究では種間雑種を含めたタカサブロウ属植物について、地理的分布と集団遺伝学的特性、稔性の有無を含めた系統間の交配親和性、異なる系統の花粉が柱頭に付着することによる繁殖成功度（生産種子の質および量）への影響、それらの頻度依存性（正の頻度依存選択の強さ）を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 系統地理および集団遺伝学的解析

全国 177 カ所の水田を踏査し、対象植物が確認された 109 カ所の水田から計 612 サンプルを採取した（集団あたり平均 5.6 個体、各個体から葉を一枚ずつ）。同時に、次世代シーケンサーを用いてタカサブロウ属植物のゲノム情報を取得し、マイクロサテライト部位の探索とプライマーの設計、それらのスクリーニングを実施した。信頼性が高いと判断した 12 セットのマイクロサテライト遺伝マーカー（SSR マーカー）を用いて全サンプルをジェノタイピングし、InStruct 解析、H1est 解析などをおこなった。

(2) 温室での交配実験

関東近郊の複数の水田から個体を採取し、ガラス温室で栽培した。昆虫の訪花によるコンタミを防ぐため個体をネットをかぶせ、袋掛け処理、自家受粉処理、他家受粉処理、交雑処理をおこなった（各処理は個体あたり一回未満。各処理平均 10.6 個体）。タカサブロウの頭花は多数の小花からなり、それぞれ的小花は雄性先熟で、頭花全体は外周から中心に向かって数日掛けて開花する。各小花を確実に受粉させるため、頭花あたり計 3 回の受粉処理をおこなった。また、受粉処理の過程で自家花粉が混入することは避けられないものとした。成熟した果実は種子

が落下する前に採取し、結実率 = 成熟種子数 / 胚珠数を算出した。他家受粉処理と交雑処理で得られた種子については SSR マーカーを用いた父性解析 (各果実あたり平均 10.5 種子) をおこない、他殖率と交雑率を推定した。

交雑処理で作出した F₁ 雑種を用いて、袋掛け処理、自家受粉処理、F₁ 同士の他家受粉処理、F₁ (種子親) × モトタカサブロウ (花粉親)、F₁ (種子親) × アメリカタカサブロウ (花粉親)、モトタカサブロウ (種子親) × F₁ (花粉親)、アメリカタカサブロウ (種子親) × F₁ (花粉親) をおこなった (各処理は個体あたり一回未満。各処理平均 8.7 個体)。果実は成熟後に採取して結実率を算出した。F₁ 同士の他家受粉処理ではほとんど種子が出来なかったため、戻し交配で得られた種子のみを対象に父性解析 (各果実あたり 8 種子) をおこない、交雑率を推定した。

(3) 花粉稔性と種子発芽

花粉稔性を明らかにするため、交配実験で得られたモトタカサブロウ (自殖由来)、アメリカタカサブロウ (自殖由来)、F₁ 雑種、F₂ 雑種 (F₁ の自殖由来) それぞれ 8 個体を選出した。花粉の形状が丸く、酢酸カーミンで赤く染まったものを稔性あり、形がいびつなものや染色されていないものを稔性なしと定義し、個体あたり 400 個 (8 つの筒状花から 50 個ずつ) の花粉を観察して花粉稔性率とした。種子発芽については、モトタカサブロウの自殖種子 (10 個体、99 種子)、アメリカタカサブロウの自殖種子 (10 個体、99 種子)、モトタカサブロウとアメリカタカサブロウの交雑処理で得られた種子 (F₁ 種子と自殖種子の混合) (34 個体、337 種子)、F₁ 雑種の自殖種子 (F₂ 世代) (9 個体、117 種子) を用いて、明条件・30 と暗条件・20、湿度 80% を 12 時間ずつ繰り返して発芽率を算出した。

(4) 野外での頻度操作実験

交配実験で得られた個体をポットに移植し、3.5 m 四方の区画内に 16 個並べて実験区とした。実験区は計 3 つ設置し、それらを頭花の寿命である 6 日ごとにローテーションしながら、計 3 反復の実験をおこなった。実験区内にはユニークな遺伝子型を持つターゲット個体を配置するとともに、区画内のモトタカサブロウとアメリカタカサブロウの頭花数 (相対的な頭花頻度) を変化させた。ターゲット個体から果実を回収し、結実率を算出するとともに、父性解析によって花粉親組成 (自殖率・他殖率・交雑率) を明らかにした (計 65 果実、1024 種子)。

4. 研究成果

(1) 系統地理および集団遺伝学的解析

InStruct 解析の結果、タカサブロウ属植物はモトタカサブロウとアメリカタカサブロウ、両種の雑種に明瞭に区分され (図 1)、集団の自殖率はモトタカサブロウが 0.91、アメリカタカサブロウが 0.93 と推定された。南日本 (琉球列島) ではモトタカサブロウ、北日本 (甲信越・北陸・東北地方) ではアメリカタカサブロウが優占していたが、中日本 (本州の関東以西) で採取した 395 個体のうち、モトタカサブロウは 95 個体 (24.1%)、アメリカタカサブロウは 254 個体 (64.3%)、雑種は 46 個体 (11.6%) となった。さらに、中日本で調査した水田 69 カ所のうち、モトタカサブロウのみが生育していた水田はわずか 1 カ所 (1.4%)、アメリカタカサブロウのみの水田は 26 カ所 (37.7%)、モトタカサブロウとアメリカタカサブロウの混生が 21 カ所 (30.4%)、少なくとも 1 個体の雑種が確認された水田は 21 カ所 (30.4%) に達していた。また、モトタカサブロウには遺伝的地域性があり、本州と琉球列島の集団は遺伝的に異なることが明らかとなった ($F_{st}=0.175$, $G'_{st}=0.475$)。

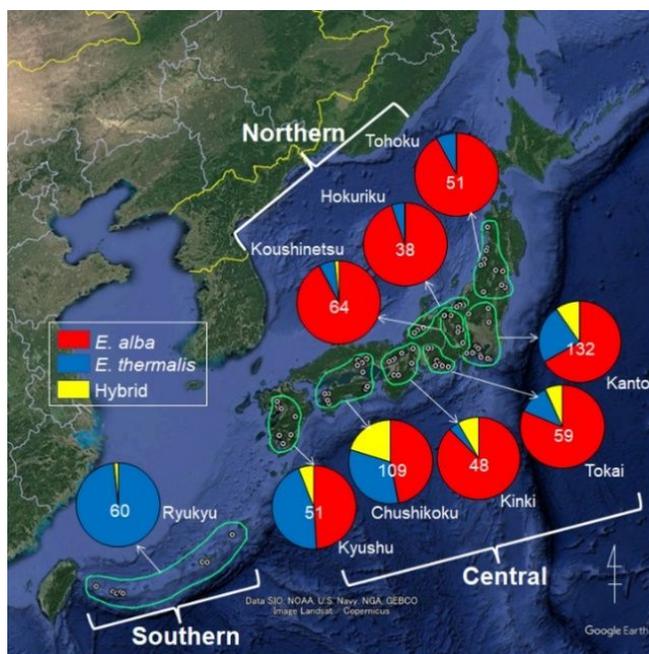


図 1 STRUCTURE 解析に基づくタカサブロウ属の地理分布。*E. alba*: アメリカタカサブロウ、*E. thermalis*: モトタカサブロウ、Hybrid: 雑種。数字はサンプル数。Kameyama *et al.* (2024) Ecological Research 39:303-317 より引用。

Hleest 解析の結果、雑種の遺伝子型は極めて多様であり、F₁ 雑種はごく少ない（雑種後代が多い）ことが示された（図2）。また、雑種におけるモトカサプロウとアメリカタカサプロウの遺伝子割合（S）は0.5前後をピークとして幅広い分布を示していた。

多項ロジスティック回帰分析の結果、各分類群（モトカサプロウ、アメリカタカサプロウ、雑種）の出現確率は緯度によって説明されたが、雑種の遺伝的組成（モトカサプロウとアメリカタカサプロウの混合度など）と緯度との関係は認められなかった。

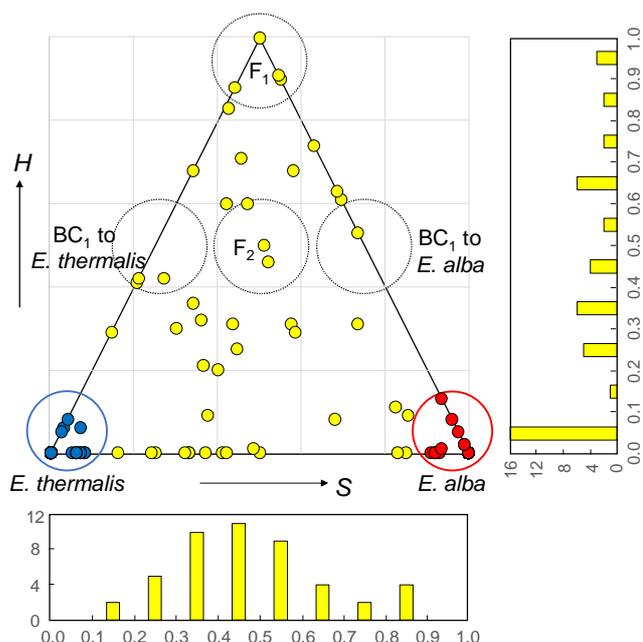


図2 Hleest 解析による遺伝的組成。E. alba：アメリカタカサプロウ、E. thermalis：モトカサプロウ、S：アメリカタカサプロウの遺伝子割合、H：種間のヘテロ接合度。Kameyama et.al. (2024) Ecological Research 39:303-317 より引用。

(2) 温室での交配実験

袋掛け処理、自家受粉処理、他家受粉処理、交雑処理による平均結実率は、モトカサプロウが 0.605、0.698、0.754、0.606、アメリカタカサプロウが 0.701、0.687、0.801、0.670 であった（図3）。いずれも高い自動自家受粉能力（袋掛け処理での結実率）を保持していたが、結実率は他家受粉処理によって有意に増加し、交雑処理では袋掛け処理と同程度まで低下した。他家受粉処理による平均他殖率はモトカサプロウが 0.033、アメリカタカサプロウが 0.164、交雑処理による平均交雑率はモトカサプロウが 0.265、アメリカタカサプロウが 0.267 となり、アメリカタカサプロウの方がモトカサプロウより他殖しやすいものの、どちらの種でも交雑率が他殖率を上回ることが明らかとなった。

F₁の袋掛け処理、F₁の自家受粉処理、F₁同士の他家受粉処理、F₁（種子親）×モトカサプロウ（花粉親）、F₁（種子親）×アメリカタカサプロウ（花粉親）、モトカサプロウ（種子親）×F₁（花粉親）、アメリカタカサプロウ（種子親）×F₁（花粉親）による平均結実率は、0.531、0.362、0.076、0.631、0.589、0.821、0.880 となった。F₁の結実率は袋掛け（自動自家受粉）よりも自家受粉処理、自家受粉処理よりも他家受粉処理で有意に低下した。F₁が種子親、モトカサプロウもしくはアメリカタカサプロウが花粉親となった場合の結実率は袋掛けよりも有意に増加し、モトカサプロウとの平均交雑率は0.547、アメリカタカサプロウとの平均交雑率は0.323 であった。一方、F₁が花粉親、モトカサプロウもしくはアメリカタカサプロウが種子親となった場合の交雑率はゼロ（全て自殖種子）であった。

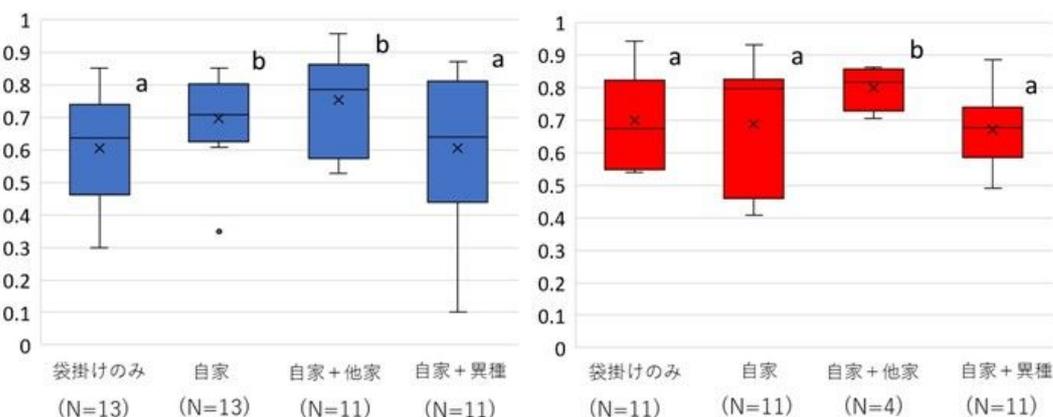


図3 交配実験による結実率（左：モトカサプロウ、右：アメリカタカサプロウ）。アルファベットの違いは一般化線形混合モデルで有意差があったことを示す。応答変数は成熟種子数、説明変数は種、処理、両者の交互作用、ランダム効果は果実（個体）、オフセット項として胚珠数を指定。確率分布はポアソン分布。

(3) 花粉稔性と種子発芽

花粉稔性率の平均値はモトタカサブロウ、アメリカタカサブロウ、 F_1 雑種、 F_2 雑種でそれぞれ 0.977、0.986、0.554、0.806 となり、 F_1 雑種で有意に低下し、 F_2 雑種で回復することが示された。種子発芽率の平均値は、モトタカサブロウ(自殖由来)、アメリカタカサブロウ(自殖由来)、モトタカサブロウとアメリカタカサブロウの交雑処理で得られた種子(F_1 種子と自殖種子の混合)、 F_1 雑種の自殖種子(F_2 世代)においてそれぞれ 1.000、0.940、0.979、0.953 と高い値を示した。

(4) 野外での頻度操作実験

モトタカサブロウ、アメリカタカサブロウともに高い結実率(80%以上)を示し、生産種子の80%以上が自殖に由来していた。結実率や自殖率と異種頭花数頻度との関係は認められなかったが、平均他殖率はモトタカサブロウが0.03、アメリカタカサブロウが0.10、平均交雑率はモトタカサブロウが0.08、アメリカタカサブロウが0.01となり、種間差が存在した。また、自殖種子を除いたときの他殖種子と交雑種子の割合に着目すると、異種頭花数頻度が増加するほど他殖率は減少し、交雑率が増加する傾向が認められた。

(5) 考察

かつて強害雑草とされていたモトタカサブロウは、近縁なアメリカタカサブロウの分布拡大に伴って個体数が激減していた。しかし、その背景は地域によって大きく異なると考えられる。本研究で調査した177カ所の水田のうちタカサブロウ属植物が生育していなかったのは68カ所で、そのうち60カ所は北日本、なかでも東北地方(51カ所)に集中していた。このような状況において、モトタカサブロウとアメリカタカサブロウが直接的な競合関係にあるとは考えにくい。両種の地理的分布と緯度に明瞭な対応関係が認められたことから、北日本のアメリカタカサブロウはモトタカサブロウが存在しない空きニッチ(空白パッチ)に侵入し、分布を拡大したものと推察される。琉球列島でモトタカサブロウが優占しているのも、その生育環境がモトタカサブロウに有利なためと考えるのが妥当であろう。ただし、今後アメリカタカサブロウが琉球列島に侵入・定着する可能性も完全には否定できず、十分な注意が必要である。これらの地域と比較して、中日本におけるモトタカサブロウの減少は極めて深刻であり、ほぼ全ての水田にアメリカタカサブロウが侵入し、多くの雑種が形成されていた。モトタカサブロウは琉球列島と本州で遺伝的に異なっていることから、本州のモトタカサブロウ系統は深刻なリスクに晒されていると考えられる。

近縁種との交雑は、形成された雑種と親種との直接的な競争だけでなく、親種における生産種子数の低下(狭義の繁殖干渉)、雑種の稔性低下を介した個体群統計学的影響(広義の繁殖干渉または demographic swamping)、遺伝子浸透による遺伝的影響(genetic swamping)を引き起こす。温室での交配実験の結果、モトタカサブロウとアメリカタカサブロウの間には交配親和性があり、異種花粉の付着は他家花粉と比較して結実率を15%低下させ、結実した種子の25%は交雑に由来していた。すなわち、異種花粉の付着は狭義の繁殖干渉(生産種子の数の低下)と広義の繁殖干渉(生産種子の質の低下)の両方を引き起こすことが示された。興味深いことに、 F_1 雑種の結実率は袋掛け(自動自家受粉)よりも自家受粉処理、自家受粉処理よりも他家受粉処理で低下し、 F_1 同士の他殖ではほとんど種子が形成されなかった。自家受粉処理による結実率の低下は不稔花粉の増加による柱頭の目詰まり、他家受粉処理による結実率低下は複数遺伝子座のエピスタシス効果(Bateson-Dobzhansky-Muller model)によるものと推察される。ここで重要なのは、 F_1 雑種に親種の花粉が付着した場合、その結実率は親種と同程度で、生産された種子の30~55%が戻し交配になることである。雑種の種子発芽能力は親種と同程度で、花粉稔性も F_1 で半減したものの F_2 で回復していた。これは一度形成された雑種が橋渡し(hybrid bridge)となって雑種後代が形成されていく可能性を示しており、十分な注意が必要である。

野外での頻度操作実験の結果、いずれの種も自殖が卓越しており、結実率と異種頭花数頻度に関係は認められなかった。しかし、モトタカサブロウでは他殖よりも交雑、アメリカタカサブロウでは交雑よりも他殖しやすい傾向があり、これは温室での交配実験の結果と一致する。さらに、自殖種子を除いたときの他殖種子と交雑種子の割合については一定の頻度依存性が認められ、モトタカサブロウの減少にアメリカタカサブロウとの送粉を介した相互作用が関与している可能性が示された。自家受粉は繁殖干渉や種間交雑を抑制するシステムとして捉えられることが多いが、自殖が卓越する一年草草本であっても自家花粉と他家花粉、異種花粉の相互作用は存在しており、それが頻度依存的な現象を引き起こしている可能性を示したことは、植物集団の維持機構を考える上で示唆に富んでいる。

(6) まとめ

タカサブロウ属植物に関する系統地理学、集団遺伝学、繁殖生態学的な研究によって、外来植物と在来植物の送粉を介した相互作用が集団の遺伝的組成や存続可能性に大きな影響を及ぼしている可能性が示された。水田生態系は基礎と応用の両面で極めて重要かつ興味深い系であり、さらに研究を進めていくことが求められる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kameyama Y, Moriwaki H, Suzuki Y, Fujiyoshi M	4. 巻 39
2. 論文標題 Eclipta thermalis, a previously common weed, threatened by the expansion of the exotic congener E. alba in Japanese rice paddies	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Ecological Research	6. 最初と最後の頁 303 ~ 317
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1440-1703.12446	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鎌田 諒, 亀山慶晃
2. 発表標題 近縁外来種の個体数頻度が在来水田雑草の繁殖成功に及ぼす影響
3. 学会等名 第70回日本生態学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鎌田 諒, 亀山慶晃
2. 発表標題 送粉を介した種間相互作用が在来水田植物の繁殖成功に及ぼす影響
3. 学会等名 第71回日本生態学会大会
4. 発表年 2024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
---------	---------