

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：12604

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23570025

研究課題名(和文)送粉系における側所的生態分化と遺伝分化

研究課題名(英文) Ecological and genetic differentiation among parapatric populations of bumblebee-pollinated plants.

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) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：花筒の長さにより地理的変異のあるタカクマヒキコシ群(シソ科)を用い、マルハナバチ2種の種組成変化により、植物の繁殖形質と遺伝的分化がどのようにもたらされているか明らかにすることを目的とした。兵庫県氷ノ山周辺の標高の異なる12集団を対象とした。花筒長は、標高が高くなるほど短くなり、マルハナバチの種組成は標高により異なっていた。マルハナバチ一回訪花時と自然状態の種子生産を測定した結果、花筒長と送粉者の口吻長の対応が必ずしも送粉効率を高めるとは限らなかった。マイクロサテライト7遺伝子座による遺伝的解析の結果、遺伝的に異なる短花筒と長花筒の2集団が認められ、二次的に接触していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The corolla tube length of *Isodon shikokianus* shows geographical variation, corresponding with the proboscis length of two bumblebee pollinator species. We hypothesized that altitudinal variation in the pollinator assemblage is a principal factor mediating morphological and genetic differentiation among *I. shikokianus* populations. The differentiation in corolla tube length was explained by altitudinal difference. However, visitation frequency of two bumblebee species vary among years and pollination effectiveness do not depend on correspondence between the lengths of the flower corolla and the mouthparts of the bumblebees. Genetic distance was explained by altitudinal differentiation and relative frequency of two bumblebee species. These results suggest that floral and genetic divergence of *I. shikokianus* occurred in different altitude range, and the altitudinal cline of corolla tube length was a result of secondary contact between the long and short corolla populations.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：種間関係 送粉系 局所適応 遺伝子流動 訪花頻度

1. 研究開始当初の背景

植物の花形質には地理的変異が見られることが多い。このような変異は、地理的隔離による異所的分化と、分化後の二次的な交雑といった視点からこれまで研究されてきた。しかし近年、共進化系の地理的モザイクという概念からのアプローチが注目されつつある。環境が場所によって異なる時、各地域における植物の生理・生態形質や、送粉者の形質や種構成はその影響を受ける。すると、送粉者による花形質への選択圧の強さや方向が、地域毎に変化することになる。その結果、局所適応がモザイク状に生じ、花形質の地理的な変異がもたらされる (Thompson 2005, Anderson et al. 2010)。このような局所適応という視点から、繁殖形質 (表現型) の生態型分化を研究した例は近年増えつつあるが、生物間相互作用に直接影響する環境要因を特定した例は少ない。また、側所的な集団間で繁殖形質の分化が遺伝子流動をどの程度制限しているのか、また逆に、局所適応が遺伝子流動によってどの程度妨げられているのか、その詳細を明らかにした例は限られる。

2. 研究の目的

シソ科ヤマハッカ属 (*Isodon*) のイヌヤマハッカとタカクマヒキオコシでは、筒状の花の長さに地理的な変異が見られる (4-12mm)。それぞれの種内で、花筒長は高度勾配上で側所的に分化している。これらの送粉者は主に2種のマルハナバチであり、この2種は口吻長と生息標高に違いがみられる。ミヤママルハナバチは口吻が短く (8-12mm)、山地性であるが (800-1500m)、トラマルハナバチは口吻が長く (10-17mm)、低地から低山地 (100-1200m) に生息する。

これまでの研究の結果、ヤマハッカ属の花筒長、遺伝分化のカギとなる環境要因は、生息地の標高である可能性が示唆されている (Dohzono & Suzuki 2010)。これは、高度環境の変異がマルハナバチの種組成やフェノロジー (開花・マルハナバチ種組成) に影響した結果、標高毎に花筒の長さへの選択圧の強さや方向が変化し、異なる標高間での花粉の移動 (遺伝子流動) が制限されたためだと考えられる。本研究は、「標高という環境要因が、マルハナバチの種組成やフェノロジーの変化を通じて、植物の繁殖形質分化と遺伝分化をどのようにもたらすのか」、そのメカニズムを実証的に解明することを目的とする。

3. 研究の方法

兵庫県氷ノ山・扇ノ山・鉢伏山周辺の11集団を対象とした。

(1) 花形態の測定: 各集団にて、15-20個体を識別し、1個体3つの花の花筒長を測定し平均値を求めた。

(2) 訪花頻度: 各集団にて、1 x 3 m のコ

ドラートを設置し、2種のマルハナバチの訪花頻度を測定した。また、訪花頻度観察時間外において、ミヤママルハナバチの存在有無を記録した。

(3) 遺伝的解析: 2013年9集団にて、15-20個体の葉をサンプリングし、マイクロサテライト7遺伝子座 (Yamashiro et al. 2013) を用いてSTRUCTURE解析を行った。

(4) 一回訪花時の種子生産: 2種のマルハナバチが一回訪花したときの種子生産 (結果率・結実率) を測定した。

(5) 自然受粉による結果率: 自然状態での果実数 / 花数を測定した。

4. 研究成果

(1) 花形態

標高が高くなると花筒長が短くなる傾向がみられた (図1)。

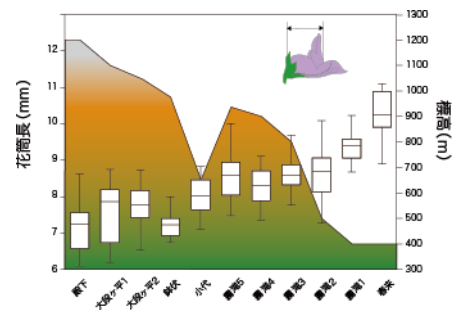


図1 各集団の花筒長と標高

(2) 訪花頻度

トラマルハナバチ (長舌) は全集団で観察され、ミヤママルハナバチ (短舌) は高標高集団でのみ観察された。標高によりマルハナバチの種組成は異なるが、訪花頻度には年変動があり、特にミヤママルハナバチの年変動は大きい (図2)。

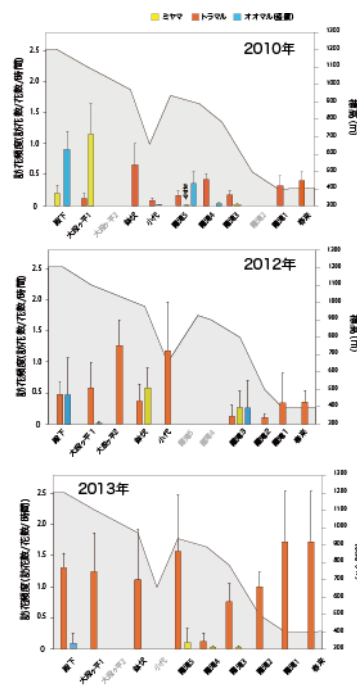


図2 各集団のマルハナバチ訪花頻度

花筒長変異の要因として、2種のマルハナバチの訪花頻度が関係しているか検討した。花筒長は標高と有意な相関が見られるが、2種のマルハナバチの相対訪花頻度と有意な関係はみられなかった(表1)。よって、送粉者相は花筒長変異を説明できない。

表1 花筒長と標高、2種のマルハナバチの相対頻度の関係 (GLM)

集団の平均花筒長	coefficient	P
標高 (m)	-0.003	0.037
長舌種トラマルの相対訪花頻度	0.535	0.824

### (3) 遺伝的解析

STRUCTURE 解析の結果、遺伝的に異なる2集団が認められた(図3)。

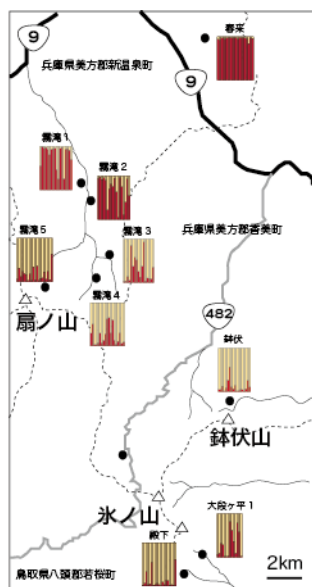


図3 マイクロサテライト7遺伝子座のSTRUCTURE解析結果

集団間の遺伝的距離は、地理的距離、標高、2種のマルハナバチの相対頻度と有意な関係がみられた(表2)。

これらの結果から、遺伝的に異なる集団が標高の違うところに分布し、二次的に接触している事が示唆された。また、送粉者相は花筒長変異を説明できないが、遺伝的変異に影響を与えていることが明らかとなった。

表2 遺伝的距離と地理的距離・標高・訪花頻度の関係 (GLM)

$F_m/(1-F_m)$	coefficient	P*
地理的距離差 (km)	0.501	0.007
標高差 (m)	0.336	0.044
長舌種トラマルの相対訪花頻度	-0.325	0.018

\* Mantel検定

### (4) 一回訪花の種子生産

低標高の花筒の長い集団において、花筒の長い個体ほど結実数が多くなる方向性選択が検出されたが、霧滝1では逆の傾向が見られた。花筒長と送粉者の口吻長の対応が、必ずしも送粉効率を高めるとは限らないことが明らかとなった(表3)。

表3 マルハナバチ1回訪花時の結実数と花筒長の関係

$\beta > 0$  花筒が長いほど結実数が多くなる方向性選択または分断化選択  
 $\beta < 0$  花筒が短いほど結実数が多くなる方向性選択または安定化選択

	方向性選択				安定化・分断化選択			
	$\beta$	SE	df	P	$\beta$	SE	df	P
殿下	-0.084	0.42	42	0.84	-0.83	0.38	41	< 0.05
大段ヶ平1	-0.16	0.25	42	0.52	-0.33	0.22	41	0.14
鉢伏	-0.052	0.28	72	0.85	0.37	0.24	71	0.13
ミヤマ	2.50	1.34	37	0.061	-4.00	1.77	33	< 0.05
小代	0.30	0.31	46	0.33	1.0	0.32	45	< 0.01
霧滝5	-0.17	0.26	28	0.52	-0.14	0.21	27	0.51
霧滝3	0.0073	0.015	73	0.62	0.00019	0.00041	72	0.65
霧滝2	0.76	0.34	41	< 0.05	0.62	0.29	40	0.05
霧滝1	-0.47	0.21	95	< 0.05	0.088	0.21	94	0.68
香米	0.63	0.28	104	< 0.05	-0.063	0.25	103	0.80

### (5) 自然受粉による種子生産

自然受粉による結果率は、花筒の長い集団で高く、ミヤママルハナバチ(短舌)いる集団では高くなっていた(図4)。

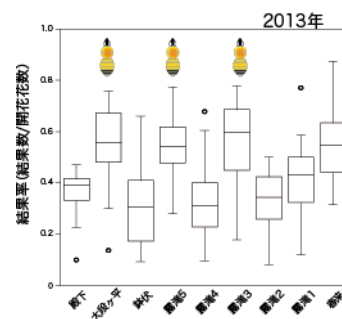


図4 自然受粉時の結果率

以上の結果から、低標高の花筒の長い集団は、種子生産が高いので増殖率が高く、集団サイズが大きいと考えられる。よって、花筒の長い集団の遺伝子は、低標高から高標高へと流動すると考えられる。一方、高標高集団にミヤママルハナバチ(短舌)がいるとき種子生産が高くなり、花筒の短い遺伝子は高標高から低標高へと流動すると考えられる。これらの双方向の遺伝子流動が拮抗して、花筒長の地理的なクラインが維持されていると考えられる。

### 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3件)

1. Shimizu A., Dohzono I., Nakaji M., Roff D. A., Miller D. G., Osato S., Yajima T., Niitsu S., Utsuki N., Sugawara T., and Yoshimura J. 2014. Fine-tuned bee-flower coevolutionary state hidden within multiple pollination

- interactions. *Scientific Reports* 4: 3988. ( 査読あり ) doi: 10.1038/srep03988
2. Yamashiro, T., Yamashiro, A. Dohzono, I. and Maki, M. 2013. Development of microsatellite markers for *Isodon longitubus* (Lamiaceae). *Applications in Plant Sciences* in press. ( 査読あり ) doi: 10.3732/apps.1300028
  3. Dohzono, I., Takami, Y. and Suzuki, K. 2011. Is bumblebee foraging efficiency mediated by morphological correspondence to flowers? *International Journal of Insect Science* 3: 1-10 ( 査読あり ) doi: 10.4137/IJIS.S4758

〔学会発表〕(計2件)

1. 星野佑介, 堂園いくみ, 鈴木和雄. 2013. 異なる送粉者相に対応したタカクマヒキオコシ群(シソ科)の花筒長変異. 日本生態学会第60回大会, 静岡, 2013年3月6日.
2. 星野佑介, 荻嶋美帆, 堂園いくみ, 山城考, 牧雅之. 2014. 異なる送粉者相に対応したタカクマヒキオコシ群(シソ科)の花筒長変異と遺伝的変異. 日本生態学会第61回大会, 広島, 2014年3月15日.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.u-gakugei.ac.jp/~dohzono/index.html>

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

牧 雅之 (MAKI Masayuki)  
東北大学・学術資源研究公開センター・教授  
研究者番号: 60263985

(3) 連携研究者

( )

研究者番号: